



REÇU 25 MAI 2004

OMPI PCT

BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION

COPIE OFFICIELLE

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le 13 FEV. 2004

Pour le Directeur général de l'Institut
national de la propriété industrielle
Le Chef du Département des brevets

Martine PLANCHE

DOCUMENT DE PRIORITÉ

PRÉSENTÉ OU TRANSMIS
CONFORMÉMENT À LA
RÈGLE 17.1.a) OU b)

INSTITUT
NATIONAL DE
LA PROPRIÉTÉ
INDUSTRIELLE

SIEGE
26 bis, rue de Saint Petersburg
75800 PARIS cedex 08
Téléphone : 33 (0)1 53 04 53 04
Télécopie : 33 (0)1 53 04 45 23
www.inpi.fr

REQUÊTE EN DÉLIVRANCE

page 1/2



Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 540 e v / 210502

REMISE DES PIÈCES DATE 12 FEV 2003 LIEU 75 INPI PARIS N° D'ENREGISTREMENT 0301688 NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI DATE DE DÉPÔT ATTRIBUÉE 12 FEV. 2003 PAR L'INPI		Reservé à l'INPI <input checked="" type="checkbox"/> NOM ET ADRESSE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE À QUI LA CORRESPONDANCE DOIT ÊTRE ADRESSÉE BECKER & ASSOCIES 35 rue des Mathurins 75008 PARIS	
Vos références pour ce dossier (facultatif) B0186FR			
Confirmation d'un dépôt par télécopie <input type="checkbox"/> N° attribué par l'INPI à la télécopie			
2 NATURE DE LA DEMANDE Demande de brevet <input checked="" type="checkbox"/> Demande de certificat d'utilité <input type="checkbox"/> Demande divisionnaire <input type="checkbox"/> <i>Demande de brevet initiale</i> N° _____ Date _____ <i>ou demande de certificat d'utilité initiale</i> N° _____ Date _____ Transformation d'une demande de brevet européen <i>Demande de brevet initiale</i> <input type="checkbox"/> N° _____ Date _____		Cochez l'une des 4 cases suivantes	
3 TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum) Aminopropanediols acylés et analogues et leurs utilisations thérapeutiques			
4 DÉCLARATION DE PRIORITÉ OU REQUÊTE DU BÉNÉFICE DE LA DATE DE DÉPÔT D'UNE DEMANDE ANTÉRIEURE FRANÇAISE		Pays ou organisation _____ N° _____ Date _____ Pays ou organisation _____ N° _____ Date _____ Pays ou organisation _____ N° _____ Date _____ <input type="checkbox"/> S'il y a d'autres priorités, cochez la case et utilisez l'imprimé «Suite»	
5 DEMANDEUR (Cochez l'une des 2 cases) <input checked="" type="checkbox"/> Personne morale <input type="checkbox"/> Personne physique			
Nom ou dénomination sociale Prénoms Forme juridique N° SIREN Code APE-NAF		GENFIT Société Anonyme 4 2 4 3 4 1 9 0 7 7 3 1 Z	
Domicile ou siège	Rue	Parc Eurasanté - Lille Métropole 885, avenue Eugène Avinée	
	Code postal et ville	59 120 LOOS	
	Pays	FRANCE	
Nationalité N° de téléphone (facultatif) Adresse électronique (facultatif)		Française N° de télécopie (facultatif)	
<input type="checkbox"/> S'il y a plus d'un demandeur, cochez la case et utilisez l'imprimé «Suite»			



BREVET D'INVENTION CERTIFICAT D'UTILITÉ

REQUÊTE EN DÉLIVRANCE

page 2/2

BR2

REMISE DES PIÈCES DATE 12 FEV 2003 LIEU 75 INPI PARIS N° D'ENREGISTREMENT 0301688 NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI		Réservé à l'INPI	DB 540 W / 210502
6 MANDATAIRE (s) (y compris)			
Nom		TEZIER HERMAN	
Prénom		Béatrice	
Cabinet ou Société		BECKER & ASSOCIES	
N° de pouvoir permanent et/ou de lien contractuel		00-10000	
Adresse	Rue	35 rue des Mathurins	
	Code postal et ville	75 008 Paris	
	Pays	France	
N° de téléphone (facultatif)		01 53 43 85 00	
N° de télécopie (facultatif)		01 53 43 85 05	
Adresse électronique (facultatif)		becker@becker.fr	
7 INVENTEUR (S)			
Les demandeurs et les inventeurs sont les mêmes personnes		<input type="checkbox"/> Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non : Dans ce cas remplir le formulaire de Désignation d'inventeur(s)	
8 RAPPORT DE RECHERCHE			
Établissement immédiat ou établissement différé		<input checked="" type="checkbox"/> Établissement immédiat <input type="checkbox"/> Établissement différé	
Paiement échelonné de la redevance (en deux versements)		Uniquement pour les personnes physiques effectuant elles-mêmes leur propre dépôt <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	
9 RÉDUCTION DU TAUX DES REDEVANCES		Uniquement pour les personnes physiques <input type="checkbox"/> Requête pour la première fois pour cette invention (joindre un avis de non-imposition) <input type="checkbox"/> Obtenue antérieurement à ce dépôt pour cette invention (joindre une copie de la décision d'admission à l'assistance gratuite ou indiquer sa référence): AG	
10 SÉQUENCES DE NUCLEOTIDES ET/OU D'ACIDES AMINÉS		<input type="checkbox"/> Cochez la case si la description contient une liste de séquences	
Le support électronique de données est joint		<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	
La déclaration de conformité de la liste de séquences sur support papier avec le support électronique de données est jointe		<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	
Si vous avez utilisé l'imprimé «Suite», indiquez le nombre de pages jointes			
11 SIGNATURE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE (Nom et qualité du signataire) Béatrice TEZIER HERMAN CPI 00-10000		VISA DE LA PRÉFECTURE OU DE L'INPI L. MARIELLO	

AMINOPROPANEDIOLS ACYLES ET ANALOGUES ET LEURS
UTILISATIONS THERAPEUTIQUES

La présente invention concerne de nouveaux aminopropanediols acylés et
5 leurs analogues azotés et sulfurés, des compositions pharmaceutiques les
comprenant, leurs applications en thérapeutique, notamment pour le traitement
de l'ischémie cérébrale. Elle a également trait à un procédé de préparation de
ces dérivés.

10 Les composés de l'invention possèdent des propriétés pharmacologiques,
anti-oxydantes et anti-inflammatoires avantageuses. L'invention décrit également
les procédés de traitement thérapeutique utilisant ces composés et des
compositions pharmaceutiques les contenant. Les composés de l'invention sont
utilisables en particulier pour prévenir ou traiter les accidents vasculaires
cérébraux.

15 En France, la pathologie vasculaire cérébrale (150000 nouveaux cas par an)
représente la troisième cause de mortalité et la première cause de handicap
chez l'adulte. Les accidents ischémiques et hémorragiques concernent
respectivement 80% et 20% de cette pathologie. Les accidents ischémiques
cérébraux constituent un enjeu thérapeutique important pour diminuer la
20 morbidité et la mortalité de cette affection. Des avancées ont été faites non
seulement dans le traitement de la phase aiguë de l'ischémie mais également
dans sa prévention. Il est aussi important de noter que l'identification et la prise
en charge des facteurs de risque sont essentielles au traitement de cette
pathologie.

25 Les traitements médicamenteux des accidents ischémiques cérébraux sont
fondés sur différentes stratégies. Une première stratégie consiste à prévenir la
survenue des accidents ischémiques cérébraux par la prévention des facteurs de
risque (hypertension artérielle, hypercholestérolémie, diabète, fibrillation
auriculaire, etc.) ou par la prévention de la thrombose, en particulier à l'aide
30 d'anti-aggrégants plaquettaires ou d'anticoagulants (Adams 2002) (Gorelick
2002).

~~Une deuxième stratégie consiste à traiter la phase aiguë de l'ischémie, afin~~
d'en diminuer les conséquences à long terme (Lutsep and Clark 2001).

La physiopathologie de l'ischémie cérébrale peut être décrite de la façon
5 suivante : la zone de pénombre, zone intermédiaire entre le cœur de l'ischémie
— où les neurones sont nécrosés — et le tissu nerveux intact, est le siège d'une
cascade physiopathologique qui aboutit en quelques jours à la mort neuronale si
la reperfusion n'est pas assurée ou si la neuroprotection n'est pas assez
efficace. Le premier événement, qui survient dans les premières heures, est une
10 libération massive de glutamate qui aboutit à une dépolarisation neuronale ainsi
qu'à un œdème cellulaire. L'entrée de calcium dans la cellule induit des dégâts
mitochondriaux favorisant la libération de radicaux libres ainsi que l'induction
d'enzymes qui provoquent la dégradation membranaire des neurones. L'entrée
de calcium et la production de radicaux libres activent à leur tour certains
15 facteurs de transcription, comme NF- κ B. Cette activation induit des processus
inflammatoires comme l'induction de protéines d'adhésion au niveau endothélial,
l'infiltration du foyer ischémique par les polynucléaires neutrophiles, l'activation
microgliale, l'induction d'enzymes comme l'oxyde nitrique (NO) synthase de type
II ou la cyclooxygénase de type II. Ces processus inflammatoires conduisent à la
20 libération de NO ou de prostanoïdes qui sont toxiques pour la cellule. L'ensemble
de ces processus aboutit à un phénomène d'apoptose provoquant des lésions
irréversibles (Dirnagl, Iadecola et al. 1999).

Le concept de neuroprotection prophylactique s'appuie sur des bases
25 expérimentales mettant en évidence une résistance vis-à-vis de l'ischémie dans
des modèles animaux. En effet, différentes procédures appliquées préalablement
à la réalisation d'une ischémie cérébrale expérimentale permettent de rendre
celle-ci moins sévère. Différents stimuli permettent d'induire une résistance à
l'ischémie cérébrale : le préconditionnement (ischémie brève précédant une
30 ischémie prolongée) ; un stress thermique ; l'administration d'une faible dose de
lipopolysaccharide bactérien (Bordet, Deplanque et al. 2000).

Ces stimuli induisent des mécanismes de résistance qui activent des signaux déclenchant les mécanismes de protection. Différents mécanismes de déclenchement ont été mis en évidence : cytokines, voies de l'inflammation, radicaux libres, NO, canaux potassique ATP dépendant, adénosine. Le délai observé entre le déclenchement des événements précoces et la résistance à l'ischémie provient de la nécessité d'une synthèse protéique. Différents types de protéines ont été décrits comme induisant la résistance à l'ischémie : les protéines du choc thermique, les enzymes anti-oxydantes et les protéines anti-apoptotiques (Nandagopal, Dawson et al. 2001).

Il existe donc un réel besoin de composés capables de prévenir l'apparition des facteurs de risque de l'accident vasculaire cérébral tels que l'athérosclérose, le diabète, l'obésité, etc., capables d'exercer une activité prophylactique en terme de neuroprotection mais également d'assurer une neuroprotection active dans la phase aiguë des accidents ischémiques cérébraux.

Les PPARs (α, β, γ) appartiennent à la famille des récepteurs nucléaires activés par les hormones. Lorsqu'ils sont activés par une association avec leur ligand, ils s'hétérodimérisent avec le Retinoïd-X-Receptor (RXR) et se fixent alors sur des « Peroxisome Proliferator Response Elements » (PPREs) qui sont localisés dans la séquence des promoteurs des gènes cibles. La fixation de PPAR sur le PPRE induit ainsi l'expression du gène cible (Fruchart, Staels et al. 2001).

Les PPARs sont distribués dans une grande variété d'organes, mais avec une certaine tissu-spécificité pour chacun d'entre eux à l'exception de PPAR β dont l'expression semble ubiquitaire. L'expression de PPAR α est particulièrement importante au niveau du foie et le long de la paroi intestinale alors que PPAR γ s'exprime principalement dans le tissu adipeux et la rate. Au niveau du système nerveux central les trois sous types (α, β, γ) sont exprimés. Les cellules telles que les oligodendrocytes ainsi que les astrocytes expriment plus particulièrement le sous-type PPAR α (Kainu, Wikstrom et al. 1994).

~~Les gènes cibles des PPARs contrôlent le métabolisme des lipides et des~~
glucides. Cependant, des découvertes récentes suggèrent que les PPARs
participent à d'autres processus biologiques. L'activation des PPARs par leurs
ligands induit le changement de l'activité transcriptionnelle de gènes qui
5 modulent le processus inflammatoire, les enzymes antioxydantes, l'angiogénèse,
la prolifération et la différenciation cellulaire, l'apoptose, les activités des iNOS,
MMPases et TIMPs (Smith, Dipreta et al. 2001) (Clark 2002).

Les radicaux libres interviennent dans un spectre très large de pathologies
comme les allergies, l'initiation et la promotion cancéreuse, les pathologies
10 cardiovasculaires (athérosclérose, ischémie), les désordres génétiques et
métaboliques (diabète), les maladies infectieuses et dégénératives (Prion, etc.)
ainsi que les problèmes ophtalmiques (Mates, Perez-Gomez et al. 1999).

Les espèces réactives oxygénées (ROS) sont produites pendant le
fonctionnement normal de la cellule. Les ROS sont constituées de radicaux
15 hydroxyle (OH), de l'anion superoxyde (O_2^-), du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et
de l'oxyde nitrique (NO). Ces espèces sont très labiles et, du fait de leur grande
réactivité chimique, constituent un danger pour les fonctions biologiques des
cellules. Elles provoquent des réactions de peroxydation lipidique, l'oxydation de
certaines enzymes et des oxydations très importantes des protéines qui mènent
20 à leur dégradation. La protection vis-à-vis de la peroxydation lipidique est un
processus essentiel chez les organismes aérobies, car les produits de
peroxydation peuvent causer des dommages à l'ADN. Ainsi un dérèglement ou
une modification de l'équilibre entre la production, la prise en charge et
l'élimination des espèces radicalaires par les défenses antioxydantes naturelles
25 conduisent à la mise en place de processus délétères pour la cellule ou
l'organisme.

La prise en charge des ROS se fait via un système antioxydant qui comprend
une composante enzymatique et non enzymatique. Le système enzymatique se
compose de plusieurs enzymes dont les caractéristiques sont les suivantes :

30 - La superoxyde dismutase (SOD) détruit le radical superoxyde en le
convertissant en peroxyde. Ce dernier est lui même pris en charge par un

autre système enzymatique. Un faible niveau de SOD est constamment généré par la respiration aérobie. Trois classes de SOD ont été identifiées chez l'homme, elles contiennent chacune du Cu, Zn, Fe, Mn, ou Ni comme cofacteur. Les trois formes de SOD humaines sont réparties de la manière suivante Cu-Zn SOD qui sont cytosoliques, une Mn-SOD mitochondriale et une SOD extracellulaire.

- La catalase est très efficace pour convertir le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau et en O_2 . Le peroxyde d'hydrogène est catabolisé de manière enzymatique dans les organismes aérobies. La catalase catalyse également la réduction d'une variété d'hydroperoxydes (ROOH).

- La glutathion peroxydase contient du sélénium comme cofacteur et catalyse la réduction d'hydroperoxydes (ROOH et H_2O_2) en utilisant du glutathion, et protège ainsi les cellules contre les dommages oxydatifs.

Les défenses cellulaires antioxydantes non enzymatiques sont constituées par des molécules qui sont synthétisées ou apportées par l'alimentation.

Il existe des molécules antioxydantes présentes dans différents compartiments cellulaires. Les enzymes détoxifiantes sont par exemple chargées d'éliminer les radicaux libres et sont indispensables à la vie de la cellule. Les trois types de composés antioxydants les plus importants sont les caroténoïdes, la vitamine C et la vitamine E (Gilgun-Sherki, Melamed et al. 2001).

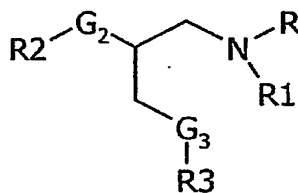
Pour éviter le phénomène d'apoptose induit par l'ischémie cérébrale et ses conséquences secondaires, les inventeurs ont mis au point de nouveaux composés capables de prévenir l'apparition des facteurs de risque décrits ci-dessus et capables d'exercer une activité prophylactique en terme de neuroprotection, mais également d'assurer une neuroprotection active dans la phase aiguë des accidents ischémiques cérébraux.

Les inventeurs ont également mis en évidence que les composés selon l'invention ont à la fois des propriétés d'activateurs PPAR, d'antioxydants et

d'antiinflammatoires et, à ces titres, les composés présentent un haut potentiel thérapeutique ou prophylactique des accidents ischémiques cérébraux.

La présente invention propose ainsi une nouvelle famille de composés possédant des propriétés pharmacologiques avantageuses et utilisables pour le traitement curatif ou préventif de l'ischémie cérébrale. Elle a également trait à un procédé de préparation de ces dérivés.

Les composés de l'invention répondent à la formule générale (I) :



(I)

dans laquelle :

- G2 et G3 représentent indépendamment un atome d'oxygène, un atome de soufre ou un groupe N-R4, G2 et G3 ne pouvant représenter de façon simultanée un groupe N-R4,
- R et R4 représentent indépendamment un atome d'hydrogène ou un groupe alkyle linéaire ou ramifié, saturé ou non, éventuellement substitué, comportant de 1 à 5 atomes de carbone,
- R1, R2 et R3, identiques ou différents, représentent un atome d'hydrogène, un groupe CO-R5 ou un groupe de formule CO-(CH₂)_{2n+1}-X-R6, l'un au moins des groupes R1, R2 ou R3 étant un groupe de formule CO-(CH₂)_{2n+1}-X-R6,

- R5 est un groupe alkyle linéaire ou ramifié, saturé ou non, éventuellement substitué, comprenant éventuellement un groupement cyclique, dont la chaîne principale comporte de 1 à 25 atomes de carbone,

5

- X est un atome de soufre, un atome de sélénium, un groupe SO ou un groupe SO₂,

10

- n est un nombre entier compris entre 0 et 11,

15

- R6 est un groupe alkyle linéaire ou ramifié, saturé ou non, éventuellement substitué, comprenant éventuellement un groupe cyclique, dont la chaîne principale comporte de 3 à 23 atomes de carbone, de préférence 10 à 23 atomes de carbone et éventuellement un ou plusieurs hétérogroupe(s) choisis parmi un atome d'oxygène, un atome de soufre, un atome de sélénium, un groupe SO et un groupe SO₂,

20

à l'exclusion des composés de formule (I) dans laquelle G2R2 et G3R3 représentent simultanément des groupes hydroxyle.

25

Dans les composés de formule générale (I) selon l'invention, le ou les groupes R5, identiques ou différents, représentent préférentiellement un groupe alkyle linéaire ou ramifié, saturé ou insaturé, substitué ou non, dont la chaîne principale comporte de 1 à 20 atomes de carbone, encore plus préférentiellement de 7 à 17 atomes de carbone, encore plus préférentiellement 14 à 17. Dans les composés de formule générale (I) selon l'invention, le ou les groupes R5, identiques ou différents, peuvent aussi représenter un groupe alkyle inférieur comportant de 1 à 6 atomes de carbone, tel que notamment le radical

30

méthyle, éthyle, propyle, isopropyle, butyle, isobutyle, pentyle ou hexyle.

Dans les composés de formule générale (I) selon l'invention, le ou les groupes R6, identiques ou différents, représentent préférentiellement un groupe alkyle linéaire ou ramifié, saturé ou insaturé, substitué ou non, dont la chaîne principale comporte de 3 à 23 atomes de carbone, préférentiellement 13 à 20 atomes de carbone, encore plus préférentiellement de 14 à 17 atomes de carbone, et encore plus préférentiellement 14 atomes de carbone.

Des exemples particuliers de groupes alkyle à chaîne longue saturée pour R5 ou R6 sont notamment les groupes C_7H_{15} , $C_{10}H_{21}$, $C_{11}H_{23}$, $C_{13}H_{27}$, $C_{14}H_{29}$, $C_{15}H_{31}$, $C_{16}H_{33}$, $C_{17}H_{35}$. Des exemples particuliers de groupes alkyle à chaîne longue insaturée pour R5 ou R6 sont notamment les groupes $C_{14}H_{27}$, $C_{14}H_{25}$, $C_{15}H_{29}$, $C_{17}H_{29}$, $C_{17}H_{31}$, $C_{17}H_{33}$, $C_{19}H_{29}$, $C_{19}H_{31}$, $C_{21}H_{31}$, $C_{21}H_{35}$, $C_{21}H_{37}$, $C_{21}H_{39}$, $C_{23}H_{45}$ ou les chaînes alkyle des acides eicosapentaénoïque (EPA) $C_{20:5}(5, 8, 11, 14, 17)$ et docosahexaénoïque (DHA) $C_{22:6}(4, 7, 10, 13, 16, 19)$.

Des exemples de groupes alkyle à chaîne longue ramifiée sont notamment les groupes $(CH_2)_n-CH(CH_3)C_2H_5$, $(CH=C(CH_3)-(CH_2)_2)_n-CH=C(CH_3)_2$ ou $(CH_2)_{2x+1}-C(CH_3)_2-(CH_2)_n-CH_3$ (x étant un nombre entier égal à ou compris entre 1 et 11, n' étant un nombre entier égal à ou compris entre 1 et 22, n'' étant un nombre entier égal à ou compris entre 1 et 5, n''' étant un nombre entier égal à ou compris entre 0 et 22, et $(2x+n''')$ étant inférieur ou égal à 22).

Comme indiqué ci-avant, les groupes alkyle R5 ou R6 peuvent éventuellement comprendre un groupe cyclique. Des exemples de groupes cycliques sont notamment le cyclopropyle, le cyclobutyle, le cyclopentyle et le cyclohexyle.

Comme indiqué ci-avant, les groupes alkyle R5 ou R6 peuvent être éventuellement substitués par un ou plusieurs substituants, identiques ou différents. Les substituants sont choisis de préférence parmi un atome d'halogène (iode, chlore, fluor, brome) et un groupe -OH, =O, -NO₂, -NH₂, -CN, -O-CH₃, -CH₂-OH, -CH₂OCH₃, -CF₃ et -COOZ (Z étant un atome d'hydrogène ou un groupe alkyle, de préférence comportant de 1 à 5 atomes de carbone).

Cette invention concerne également les isomères optiques et géométriques de ces composés, leurs racémates, leurs sels, leurs hydrates et leurs mélanges.

5 Les composés de formule (Ia) sont les composés de formule (I) selon l'invention dans laquelle un seul des groupes R1, R2 ou R3 représente un atome d'hydrogène.

10 Les composés de formule (Ib) sont les composés de formule (I) selon l'invention dans laquelle deux des groupes R1, R2 ou R3 représentent un atome d'hydrogène.

15 La présente invention inclut également les prodrogues des composés de formule (I), qui, après administration chez un sujet, vont se transformer en composés de formule (I) et/ou les métabolites des composés de formule (I) qui présentent des activités thérapeutiques, notamment pour le traitement de l'ischémie cérébrale comparables aux composés de formule (I).

20 La présente invention a également pour objet une composition pharmaceutique comprenant, dans un support acceptable sur le plan pharmaceutique, au moins un composé de formule générale (I) tel que décrit ci-dessus, y compris les composés de formule (I) dans laquelle les groupes G2R2 et G3R3 représentent simultanément des groupements hydroxyle, éventuellement en association avec un autre actif thérapeutique. Cette
25 composition est en particulier destinée à traiter une pathologie vasculaire cérébrale, telle que l'ischémie cérébrale ou un accident hémorragique cérébral.

L'invention concerne aussi des méthodes de préparation de composés de formule (I) tels que décrits ci-dessus.

30

Par ailleurs, dans le groupe $\text{CO}-(\text{CH}_2)_{2n+1}\text{-X-R6}$, X représente tout préférentiellement un atome de soufre ou de sélénium et avantageusement un atome de soufre.

Par ailleurs, dans le groupe $\text{CO}-(\text{CH}_2)_{2n+1}-\text{X}-\text{R}_6$, n est de préférence compris entre 0 et 3, plus spécifiquement compris entre 0 et 2 et est en particulier égal à 0.

5

Dans les composés de formule générale (I) selon l'invention, R_6 peut comporter un ou plusieurs hétérogroupe, de préférence 0, 1 ou 2, plus préférentiellement 0 ou 1, choisis parmi un atome d'oxygène, un atome de soufre, un atome de sélénium, un groupe SO et un groupe SO_2 .

10

Un exemple spécifique de groupe $\text{CO}-(\text{CH}_2)_{2n+1}-\text{X}-\text{R}_6$ selon l'invention est le groupe $\text{CO}-\text{CH}_2-\text{S}-\text{C}_{14}\text{H}_{29}$.

15

Des composés préférés au sens de l'invention sont donc des composés de formule générale (I) ci-dessus dans laquelle au moins un des groupes R_1 , R_2 et R_3 représente un groupe $\text{CO}-(\text{CH}_2)_{2n+1}-\text{X}-\text{R}_6$ dans lequel X représente un atome de soufre ou de sélénium et de préférence un atome de soufre et/ou R_6 est un groupe alkyle saturé et linéaire comprenant de 3 à 23 atomes de carbone, préférentiellement 13 à 20 atomes de carbone, de préférence de 14 à 17, plus

20

préférentiellement de 14 à 16, et encore plus préférentiellement 14 atomes de carbone.

25

D'autres composés particuliers selon l'invention sont ceux dans lesquels au moins deux des groupes R_1 , R_2 et R_3 sont des groupes $\text{CO}-(\text{CH}_2)_{2n+1}-\text{X}-\text{R}_6$, identiques ou différents, dans lesquels X représente un atome de soufre ou de sélénium et de préférence un atome de soufre.

30

Des composés particuliers selon l'invention sont ceux dans lesquels G_2 représente un atome d'oxygène ou de soufre, et de préférence un atome d'oxygène. Dans ces composés, R_2 représente avantageusement un groupe de formule $\text{CO}-(\text{CH}_2)_{2n+1}-\text{X}-\text{R}_6$ tel que défini ci-avant.

Des composés particulièrement préférés sont les composés de formule générale (I) ci-dessus dans laquelle :

• G3 est un groupe N-R4 dans lequel R4 est un atome d'hydrogène ou un groupe méthyle, et G2 est un atome d'oxygène ; et/ou

• R2 représente un groupe $\text{CO}-(\text{CH}_2)_{2n+1}-\text{X}-\text{R6}$ tel que défini ci-avant.

D'autres composés préférés sont les composés de formule générale (I) ci-dessus dans laquelle R1, R2 et R3, identiques ou différents, de préférence identiques, représentent un groupe $\text{CO}-(\text{CH}_2)_{2n+1}-\text{X}-\text{R6}$ tel que défini ci-avant, dans lesquels X représente un atome de soufre ou de sélénium et de préférence un atome de soufre et/ou R6 est un groupe alkyle saturé et linéaire comprenant de 13 à 17 atomes de carbone, de préférence de 14 à 17, encore plus préférentiellement 14 atomes de carbone, dans lesquels n est de préférence compris entre 0 et 3, et en particulier égal à 0. De manière plus spécifique, d'autres composés préférés sont les composés de formule générale (I) dans laquelle R1, R2 et R3 représentent des groupes $\text{CO}-\text{CH}_2-\text{S}-\text{C}_{14}\text{H}_{29}$.

Des exemples de composés préférés selon l'invention sont représentés sur la Figure 1.

Ainsi, la présente invention a plus particulièrement pour objet des composés choisis parmi :

- 1-tétradécylthioacétylamino-2,3-(dipalmitoyloxy)propane ;
- 3-tétradécylthioacétylamino-1,2-(ditétradécylthioacétyloxy)propane ;
- 3-palmitoylamino-1,2-(ditétradécylthioacétyloxy)propane ;
- 1,3-di(tétradécylthioacétylamino)propan-2-ol ;
- 1,3-diamino-2-(tétradécylthioacétyloxy)propane ;
- 1,3-ditétradécylthioacétylamino-2-(tétradécylthioacétyloxy)propane ;
- 1,3-dioléoylamino-2-(tétradécylthioacétyloxy)propane ;
- 1,3-ditétradécylthioacétylamino-2-(tétradécylthioacétylthio)propane ; et
- 1-tétradécylthioacétylamino-2,3-di(tétradécylthioacétylthio)propane.

~~Un autre objet de la présente invention concerne toute composition~~
pharmaceutique comprenant dans un support acceptable sur le plan
pharmaceutique au moins un composé de formule (I) tel que décrit ci-dessus, y
compris les composés de formule (I) dans laquelle les groupes G2R2 et G3R3
5 ~~représentent simultanément des groupements hydroxyle.~~

Il s'agit avantageusement d'une composition pharmaceutique pour le
traitement ou la prophylaxie des pathologies vasculaires cérébrales et plus
particulièrement de l'ischémie cérébrale ou des accidents vasculaires cérébraux.
10 Il a en effet été trouvé de manière surprenante que les composés de formule (I),
y compris les composés de formule (I) dans laquelle les groupes G2R2 et G3R3
représentent simultanément des groupements hydroxyle, possèdent à la fois des
propriétés d'activateurs PPAR, d'antioxydants et d'anti-inflammatoires et
possèdent une activité de neuroprotection prophylactique et curative pour
15 l'ischémie cérébrale.

L'invention concerne également l'utilisation d'un composé tel que défini ci-
avant pour la préparation d'une composition pharmaceutique destinée à la mise
en œuvre d'une méthode de traitement ou de prophylaxie chez l'Homme ou chez
20 l'animal.

L'invention concerne également une méthode de traitement des
pathologies vasculaires cérébrales et plus particulièrement de l'ischémie
cérébrale, comprenant l'administration à un sujet, notamment humain, d'une
25 dose efficace d'un composé de formule (I) ou d'une composition pharmaceutique
tels que définis ci-avant, y compris les composés de formule générale (I) dans
laquelle les groupes G2R2 et G3R3 représentent simultanément des
groupements hydroxyle.

30

Avantageusement, les composés de formule (I) utilisés sont tels que définis
ci-dessus et comprennent également le 3-(tétradécylthioacétylamino)propane-
1,2-diol.

Les compositions pharmaceutiques selon l'invention comprennent avantageusement un ou plusieurs excipients ou véhicules, acceptables sur le plan pharmaceutique. On peut citer par exemple des solutions salines, physiologiques, isotoniques, tamponnées, etc., compatibles avec un usage pharmaceutique et connues de l'homme du métier. Les compositions peuvent contenir un ou plusieurs agents ou véhicules choisis parmi les dispersants, solubilisants, stabilisants, surfactants, conservateurs, etc. Des agents ou véhicules utilisables dans des formulations (liquides et/ou injectables et/ou solides) sont notamment la méthylcellulose, l'hydroxyméthylcellulose, la carboxyméthylcellulose, le polysorbate 80, le mannitol, la gélatine, le lactose, des huiles végétales, l'acacia, etc. Les compositions peuvent être formulées sous forme de suspension injectable, de gels, huiles, comprimés, suppositoires, poudres, gélules, capsules, etc., éventuellement au moyen de formes galéniques ou de dispositifs assurant une libération prolongée et/ou retardée. Pour ce type de formulation, on utilise avantageusement un agent tel que la cellulose, des carbonates ou des amidons.

Les composés ou compositions selon l'invention peuvent être administrés de différentes manières et sous différentes formes. Ainsi, ils peuvent être par exemple administrés de manière systémique, par voie orale, parentérale, par inhalation ou par injection, comme par exemple par voie intraveineuse, intramusculaire, sous-cutanée, trans-dermique, intra-artérielle, etc. Pour les injections, les composés sont généralement conditionnés sous forme de suspensions liquides, qui peuvent être injectées au moyen de seringues ou de perfusions, par exemple. A cet égard, les composés sont généralement dissous dans des solutions salines, physiologiques, isotoniques, tamponnées, etc., compatibles avec un usage pharmaceutique et connues de l'homme du métier. Ainsi, les compositions peuvent contenir un ou plusieurs agents ou véhicules choisis parmi les dispersants, solubilisants, émulsifiants, stabilisants, surfactants, conservateurs, tampons, etc. Des agents ou véhicules utilisables dans des formulations liquides et/ou injectables sont notamment la

~~méthylcellulose, l'hydroxyméthylcellulose, la carboxyméthylcellulose, le~~
polysorbate 80, le mannitol, la gélatine, le lactose, des huiles végétales, l'acacia,
les liposomes, etc.

5 Les composés peuvent ainsi être administrés sous forme de gels, huiles,
comprimés, suppositoires, poudres, gélules, capsules, aérosols, etc.,
éventuellement au moyen de formes galéniques ou de dispositifs assurant une
libération prolongée et/ou retardée. Pour ce type de formulation, on utilise
avantageusement un agent tel que la cellulose, des carbonates ou des amidons.

10

Les composés peuvent être administrés oralement auquel cas les agents ou
véhicules utilisés sont choisis préférentiellement parmi l'eau, la gélatine, les
gommes, le lactose, l'amidon, le stéarate de magnésium, le talc, une huile, le
polyalkylène glycol, etc.

15

Pour une administration parentérale, les composés sont préférentiellement
administrés sous la forme de solutions, suspensions ou émulsions avec
notamment de l'eau, de l'huile ou des polyalkylène glycols auxquels il est
possible d'ajouter, outre des agents conservateurs, stabilisants, émulsifiants,
20 etc., des sels permettant d'ajuster la pression osmotique, des tampons, etc.

25

Il est entendu que le débit et/ou la dose injectée peuvent être adaptés par
l'homme du métier en fonction du patient, de la pathologie concernée, du mode
d'administration, etc. Typiquement, les composés sont administrés à des doses
pouvant varier entre 1 μ g et 2 g par administration, préférentiellement de 0,1 mg
à 1 g par administration. Les administrations peuvent être quotidiennes ou
répétées plusieurs fois par jour, le cas échéant. D'autre part, les compositions
selon l'invention peuvent comprendre, en outre, d'autres agents ou principes
actifs.

30

Les composés de l'invention peuvent être préparés à partir de produits du
commerce, en mettant en œuvre une combinaison de réactions chimiques

connues de l'homme du métier. L'invention concerne également des procédés de préparation des composés tels que définis ci-avant.

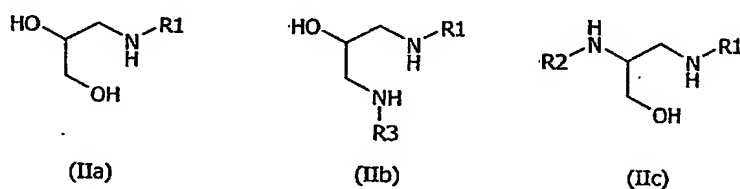
Selon un procédé de l'invention, les composés de formule (I) dans lesquels (i) G2 et G3 sont des atomes d'oxygène, de soufre ou un groupe N-R4, (ii) R et, le cas échéant R4, représentent de façon identique, un groupe alkyle linéaire ou ramifié, saturé ou non, éventuellement substitué, comportant de 1 à 5 atomes de carbones et (iii) R1, R2 et R3, identiques ou différents, représentent un groupe CO-R5 ou un groupe CO-(CH₂)_{2n+1}-X-R6, sont obtenus à partir d'un composé de formule (I) dans laquelle (i) G2 ou G3 sont des atomes d'oxygène, de soufre ou un groupe NH, (ii) R est un atome d'hydrogène et (iii) R1, R2 et R3, identiques ou différents, représentent un groupe CO-R5 ou CO-(CH₂)_{2n+1}-X-R6, et d'un composé de formule A1-LG dans laquelle A1 représente le groupe R ou, le cas échéant, R4 et LG un groupe réactif choisi par exemple parmi Cl, Br, mésyl, tosyl, etc., en présence éventuellement d'agents de couplage ou d'activateurs connus de l'homme de métier.

Selon un premier mode, les composés de formule (I) dans lesquels (i) G2 et G3 sont des atomes d'oxygène, de soufre ou un groupe NH, (ii) R est un atome d'hydrogène et (iii) R1, R2 et R3, identiques, représentent un groupe CO-(CH₂)_{2n+1}-X-R6, sont obtenus à partir d'un composé de formule (I) dans laquelle (i) G2 ou G3 sont des atomes d'oxygène, de soufre ou un groupe NH, (ii) R est un atome d'hydrogène et (iii) R1, R2 et R3 sont des atomes d'hydrogène et d'un composé de formule A°-CO-A dans laquelle A est un groupe réactif choisi par exemple parmi OH, Cl, O-CO-A° et O-R7, R7 étant un groupe alkyle, et A° est le groupe (CH₂)_{2n+1}-X-R6, en présence éventuellement d'agents de couplage ou d'activateurs connus de l'homme de métier.

Les composés de formule (I) selon l'invention dans laquelle (i) G2 et G3 sont des atomes d'oxygène ou un groupe NH, (ii) R est un atome d'hydrogène et (iii) R1, R2 et R3 sont des atomes d'hydrogène ou représentent un groupe CO-R5 ou CO-(CH₂)_{2n+1}-X-R6 peuvent être obtenus selon différentes méthodes qui

permettent la synthèse de composés dans lesquels les groupes portés par un même hétéroatome (azote ou oxygène) ont même signification.

- 5 Selon un premier mode, on fait réagir une molécule de 1-aminoglycérol, de 1,3-diaminoglycérol ou de 1,2-diaminoglycérol (obtenu en adaptant le protocole décrit par (Morris, Atassi et al. 1997)) avec un composé de formule $A^{\circ}\text{-CO-A1}$ dans laquelle A1 est un groupe réactif choisi par exemple parmi OH, Cl et OR7, R7 étant un groupe alkyle, et A° est le groupe R5 ou le groupe $(\text{CH}_2)_{2n+1}\text{-X-R6}$ en présence éventuellement d'agents de couplage ou d'activateurs connus de l'homme de métier. Cette réaction permet l'obtention respective de formes particulières de composés de formule (I), nommées composés (IIa-c), et peut être mise en œuvre en adaptant des protocoles décrits (Urakami and Kakeda 1953) (Shealy, Frye et al. 1984) (Marx, Piantadosi et al. 1988) (Rahman, Ziering et al. 1988) ou (Nazih, Cordier et al. 1999). Dans les composés (IIb-c), les groupements portés par un même hétéroatome, respectivement, (R1 et R3) et (R1 et R2) ont même signification.



20

- Les composés de formule (I) selon l'invention dans laquelle (i) G2 et G3 sont des atomes d'oxygène ou un groupe NH, (ii) R est un atome d'hydrogène et (iii) R1, R2 et R3, identiques ou différents, représentent un groupe CO-R5 ou CO- $(\text{CH}_2)_{2n+1}\text{-X-R6}$, peuvent être obtenus à partir d'un composé de formule (IIa-c) et d'un composé de formule $A^{\circ}\text{-CO-A2}$ dans laquelle A2 est un groupe réactif choisi par exemple entre OH et Cl, et A° est le groupe R5 ou le groupe $(\text{CH}_2)_{2n+1}\text{-X-R6}$, en présence éventuellement d'agents de couplage ou d'activateurs connus de l'homme de métier. Cette réaction permet la synthèse de composés dans lesquels les groupements portés par un même hétéroatome (azote ou oxygène),

30

respectivement (R1 et R2), ou (R1 et R3), ou (R2 et R3) ont même signification. Cette réaction est avantageusement réalisée selon le protocole décrit par exemple dans (Urakami and Kakeda 1953) et (Nazih, Cordier et al. 1999).

5

Selon un autre procédé particulier de l'invention (schéma 1), les composés de formule (I) dans laquelle (i) G2 et G3 sont des atomes d'oxygène ou un groupe NH, (ii) R est un atome d'hydrogène et (iii) R1, R2 et R3, identiques ou différents, représentent un groupe CO-R5 ou CO-(CH₂)_{2n+1}-X-R5, peuvent être obtenus selon les étapes suivantes :

10

15

a) réaction du 1-aminoglycérol, du 1,3-diaminoglycérol ou du 1,2-diaminoglycérol avec un composé (PG)₂O dans lequel PG est un groupement protecteur pour donner un composé de formule générale (IIIa-c). La réaction peut avantageusement être mise en œuvre en adaptant les protocoles décrits par (Nazih, Cordier et al. 2000) et (Kotsovolou, Chiou et al. 2001) dans lesquels (PG)₂O représente le dicarbonate de di-tert-butyle ;

20

25

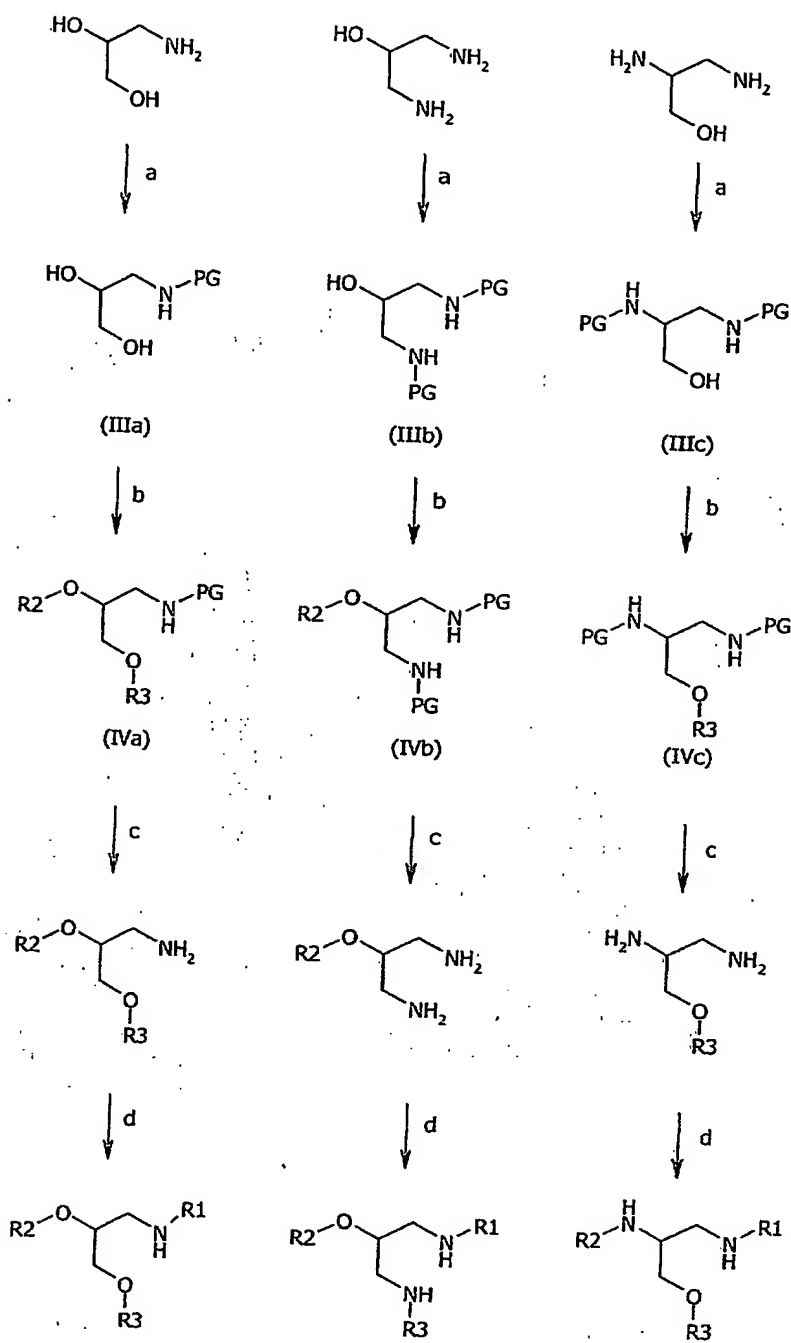
b) réaction du composé de formule (IIIa-c) avec un composé de formule A°-CO-A2 dans laquelle A2 est un groupe réactif choisi par exemple entre OH et Cl, et A° est le groupe R5 ou le groupe (CH₂)_{2n+1}-X-R6, en présence éventuellement d'agents de couplage ou d'activateurs connus de l'homme de métier pour donner un composé de formule générale (IVa-c), dans laquelle R2 et R3 représentent un groupe CO-R5 ou CO-(CH₂)_{2n+1}-X-R6 et PG est un groupement protecteur ;

30

c) déprotection du composé (IVa-c), selon des conditions classiques connues de l'homme de métier, pour donner un composé de formule générale (I) dans laquelle (i) G2 et G3 représente un atome d'oxygène ou un groupe NH, (ii) R et R1 sont des atomes d'hydrogène et (iii) R2 et R3 représentent un groupe CO-R5 ou CO-(CH₂)_{2n+1}-X-R6 ;

d) réaction d'un composé de formule générale (I) dans laquelle (i) G2

et G3 représentent un atome d'oxygène ou un groupe NH, (ii) R et R1 sont des atomes d'hydrogène et (iii) R2 et R3 représentent un groupe CO-R5 ou CO-(CH₂)_{2n+1}-X-R6 avec un composé de formule A°-CO-A2 dans laquelle A2 est un groupe réactif choisi par exemple entre OH et Cl, et A° est le groupe R5 ou le groupe (CH₂)_{2n+1}-X-R6, en présence éventuellement d'agents de couplage ou d'activateurs connus de l'homme de métier.



a. protection ; b. acylation ; c. déprotection ; d. amidification

schéma 1

- 5 Les composés de formule (I) selon l'invention dans laquelle (i) G2 et G3 sont des atomes d'oxygène, (ii) R est un atome d'hydrogène et (iii) R1, R2 et R3,

identiques ou différents, représentent un groupe CO-R5 ou $\text{CO-(CH}_2\text{)}_{2n+1}\text{-X-R6}$, peuvent être obtenus de différentes façons.

Selon une première méthode, on fait réagir un composé de formule (I) selon l'invention, dans laquelle (i) G2 et G3 sont des atomes d'oxygène, (ii) R et R2 sont des atomes d'hydrogène et (iii) R1, R3, identiques ou différents, représentent un groupe CO-R5 ou $\text{CO-(CH}_2\text{)}_{2n+1}\text{-X-R6}$, avec un composé de formule $\text{A}^\circ\text{-CO-A2}$ dans laquelle A2 est un groupe réactif choisi par exemple entre OH et Cl, et A° est le groupe R5 ou le groupe $\text{(CH}_2\text{)}_{2n+1}\text{-X-R6}$, en présence éventuellement d'agents de couplage ou d'activateurs connus de l'homme de métier.

Selon ce mode de préparation, les composés de formule (I) dans laquelle (i) G2 et G3 sont des atomes d'oxygène, (ii) R et R2 sont des atomes d'hydrogène et (iii) R1 et R3, identiques ou différents, représentent un groupe CO-R5 ou $\text{CO-(CH}_2\text{)}_{2n+1}\text{-X-R6}$, peuvent être obtenus à partir d'un composé de formule (IIa) tel que défini ci-avant avec un composé de formule $\text{A}^\circ\text{-CO-A2}$ dans laquelle A2 est un groupe réactif choisi par exemple entre OH et Cl, et A° est le groupe R5 ou le groupe $\text{(CH}_2\text{)}_{2n+1}\text{-X-R6}$, en présence éventuellement d'agents de couplage ou d'activateurs connus de l'homme de métier.

Selon un autre procédé particulier de l'invention, les composés de formule (I) dans laquelle (i) G2 et G3 sont des atomes d'oxygène, (ii) R est un atome d'hydrogène et (iii) R1, R2 et R3, identiques ou différents, représentent un groupe CO-R5 ou $\text{CO-(CH}_2\text{)}_{2n+1}\text{-X-R6}$, peuvent être obtenus à partir d'un composé de formule (I) selon l'invention dans laquelle (i) G2 et G3 sont des atomes d'oxygène, (ii) R, R2 et R3 représentent un atome d'hydrogène et (iii) R1 est un groupe CO-R5 ou $\text{CO-(CH}_2\text{)}_{2n+1}\text{-X-R6}$ (composé de formule (IIa)) selon les étapes suivantes (schéma 2):

a) réaction du composé de formule (IIa) avec un composé PG-E dans lequel PG est un groupement protecteur et E est un groupe réactif choisi par exemple parmi OH ou un halogène, pour donner un composé de

formule générale (V) dans laquelle R1 est un groupe CO-R5 ou CO-(CH₂)_{2n+1}-X-R6. La réaction peut avantageusement être mise en œuvre en adaptant les protocoles décrits par (Marx, Piantadosi et al. 1988) et (Gaffney and Reese 1997) dans lesquels PG-E peut représenter le chlorure de triphénylméthyle ou le 9-phénylxanthène-9-ol ou encore le 9-chloro-9-phénylxanthène ;

b) réaction du composé de formule (V) avec un composé de formule A°-CO-A2 dans laquelle A2 est un groupe réactif choisi par exemple entre OH et Cl, et A° est le groupe R5 ou le groupe (CH₂)_{2n+1}-X-R6, en présence éventuellement d'agents de couplage ou d'activateurs connus de l'homme de métier pour donner un composé de formule générale (VI), dans laquelle R1 et R2, identiques ou différents, représentent un groupe CO-R5 ou CO-(CH₂)_{2n+1}-X-R6 et PG est un groupement protecteur ;

c) déprotection du composé (VI), dans des conditions connues de l'homme de métier, pour donner un composé de formule générale (I) dans laquelle (i) G2 et G3 sont des atomes d'oxygène, (ii) R et R3 sont des atomes d'hydrogène et (iii) R1 et R2, identiques ou différents, représentent un groupe CO-R5 ou CO-(CH₂)_{2n+1}-X-R6 ;

d) réaction d'un composé de formule générale (I) dans laquelle (i) G2 et G3 sont des atomes d'oxygène, (ii) R et R3 sont des atomes d'hydrogène et (iii) R1 et R2, identiques ou différents, représentent un groupe CO-R5 ou CO-(CH₂)_{2n+1}-X-R6 avec un composé de formule A°-CO-A2 dans laquelle A2 est un groupe réactif choisi par exemple entre OH et Cl, et A° est le groupe R5 ou le groupe (CH₂)_{2n+1}-X-R6, en présence éventuellement d'agents de couplage ou d'activateurs connus de l'homme de métier.

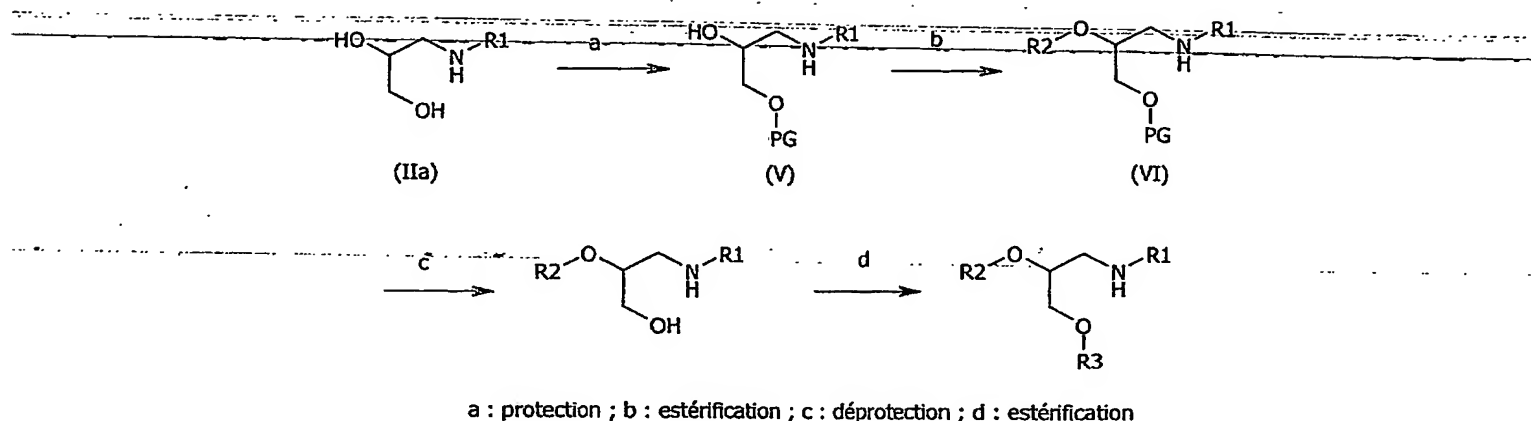


schéma 2

Les étapes ci-dessus peuvent être réalisées avantageusement selon les
5 protocoles décrits par (Marx, Piantadosi et al. 1988).

Selon un autre procédé de l'invention, les composés de formule (I) dans
lesquels (i) G2 ou G3 représentent un atome d'oxygène ou un groupe N-R4, (ii)
au moins un des groupes G2 ou G3 représente un groupe N-R4, (iii) R et R4
10 représentent indépendamment des groupes alkyle linéaires ou ramifiés, saturés
ou non, éventuellement substitués, comportant de 1 à 5 atomes de carbones et
(iv) R1, R2 et R3, identiques ou différents, représentent un groupe CO-R5 ou un
groupe CO-(CH₂)_{2n+1}-X-R6, sont obtenus par réaction d'un composé de formule
(I) dans laquelle (i) l'un des groupes G2R2 ou G3R3 représente un groupe
15 hydroxyle et l'autre groupe G2R2 ou G3R3 représente un groupe NR4R2 ou
NR4R3 respectivement avec, R2 ou R3 représentant un groupe CO-R5 ou un
groupe CO-(CH₂)_{2n+1}-X-R6, (ii) R et R4 représentent indépendamment un groupe
alkyle linéaire ou ramifié, saturé ou non, éventuellement substitué, comportant de
1 à 5 atomes de carbones et (iii) R1 représente un groupe CO-R5 ou un groupe
20 CO-(CH₂)_{2n+1}-X-R6, avec un composé de formule A°-CO-A2 dans laquelle A2 est
un groupe réactif choisi par exemple entre OH et Cl, et A° est le groupe R5 ou le
groupe (CH₂)_{2n+1}-X-R6, en présence éventuellement d'agents de couplage ou
d'activateurs connus de l'homme de métier.

Les composés de formule (I) selon l'invention dans laquelle (i) l'un des groupes G2R2 ou G3R3 représente un groupe hydroxyle et l'autre groupe G2R2 ou G3R3 représente un groupe NR4R2 ou NR4R3 respectivement avec, R2 ou R3 représentant un groupe CO-R5 ou un groupe CO-(CH₂)_{2n+1}-X-R6, (ii) R et R4
 5 représentent indépendamment des groupes alkyle linéaires ou ramifiés, saturés ou non, éventuellement substitués, comportant de 1 à 5 atomes de carbones et (iii) R1 représente un groupe CO-R5 ou un groupe CO-(CH₂)_{2n+1}-X-R6 sont obtenus à partir d'un composé de formule (I) selon l'invention dans laquelle l'un
 10 des groupes G2R2 ou G3R3 représente un groupe hydroxyle et l'autre groupe G2R2 ou G3R3 représente un groupe NR4R2 ou NR4R3 respectivement avec, R2 ou R3 représentant un groupe CO-R5 ou un groupe CO-(CH₂)_{2n+1}-X-R6, (ii) R et R4 représentent indépendamment un groupe tel que défini ci-avant et (iii) R1 est un atome d'hydrogène avec un composé de formule A°-CO-A2 dans laquelle
 15 A2 est un groupe réactif choisi par exemple entre OH et Cl, et A° est le groupe R5 ou le groupe (CH₂)_{2n+1}-X-R6, en présence éventuellement d'agents de couplage ou d'activateurs connus de l'homme de métier.

Dans un premier mode (schéma 3), les composés de formule (I) selon l'invention dans laquelle (i) G2 est un atome d'oxygène, (ii) G3 représente un
 20 groupe N-R4, (iii) R et R4 représentent indépendamment des groupes alkyle linéaires ou ramifiés différents, saturés ou non, éventuellement substitués, comportant de 1 à 5 atomes de carbones, (iv) R1 et R2 sont des atomes d'hydrogène et (v) R3 représente un groupe CO-R5 ou un groupe CO-(CH₂)_{2n+1}-X-R6 sont obtenus de la façon suivante :

- 25
- a) réaction du 1-aminoglycérol avec un composé de formule R-CHO dans laquelle R représente un groupe alkyle linéaire ou ramifié, saturé ou non, éventuellement substitué, comportant de 1 à 5 atomes de carbones et CHO est la fonction aldéhyde en présence d'agents
 30 réducteurs connus de l'homme de métier pour obtenir un composé de formule (VII) dans laquelle R est un groupe tel que défini plus avant. Cette réaction peut avantageusement être mise en œuvre en adaptant les protocoles décrits par (Antoniadou-Vyzas, Foscolos et al. 1986) ;

- b) réaction d'un composé de formule (VII) avec un composé $(PG)_2O$ dans lequel PG est un groupement protecteur pour donner un composé de formule générale (VIII). La réaction peut avantageusement être mise en œuvre en adaptant les protocoles décrits par (Nazih, Cordier et al. 2000) et (Kotsovolou, Chiou et al. 2001) dans lesquels $(PG)_2O$ représente le dicarbonate de di-tert-butyle ;
- 5
- c) réaction d'un composé de formule (VIII) avec un composé de formule LG-E dans laquelle E représente un halogène et LG un groupe réactif choisi par exemple parmi mésyle, tosyle, etc., pour donner un composé de formule générale (IX) en adaptant la procédure décrite par [Kitchin, 1994 #13] ;
- 10
- d) réaction d'un composé composé de formule (IX) avec un composé de formule R_4-NH_2 dans laquelle R_4 représente un groupe alkyle linéaire ou ramifié, saturé ou non, éventuellement substitué, comportant de 1 à 5 atomes de carbones et NH_2 représente la fonction amine, selon la méthode décrite par (Ramalingan, Raju et al. 1995), pour obtenir un composé de formule (X) dans laquelle R et R_4 , éventuellement différents, sont tels que définis ci-avant ;
- 15
- 20
- e) réaction d'un composé de formule (X) avec un composé de formule $A^\circ-CO-A_2$ dans laquelle A_2 est un groupe réactif choisi par exemple entre OH et Cl, et A° est le groupe R_5 ou le groupe $(CH_2)_{2n+1}-X-R_6$, en présence éventuellement d'agents de couplage ou d'activateurs connus de l'homme de métier pour obtenir un composé de formule (XI) dans laquelle R et R_4 représentent des groupes alkyle linéaires ou ramifiés différents, saturés ou non, éventuellement substitués, comportant de 1 à 5 atomes de carbones, R_3 représente le groupe R_5 ou le groupe $(CH_2)_{2n+1}-X-R_6$ et PG est un groupement protecteur ;
- 25
- 30

f) déprotection du composé (XI) selon des conditions connues de l'homme de métier.

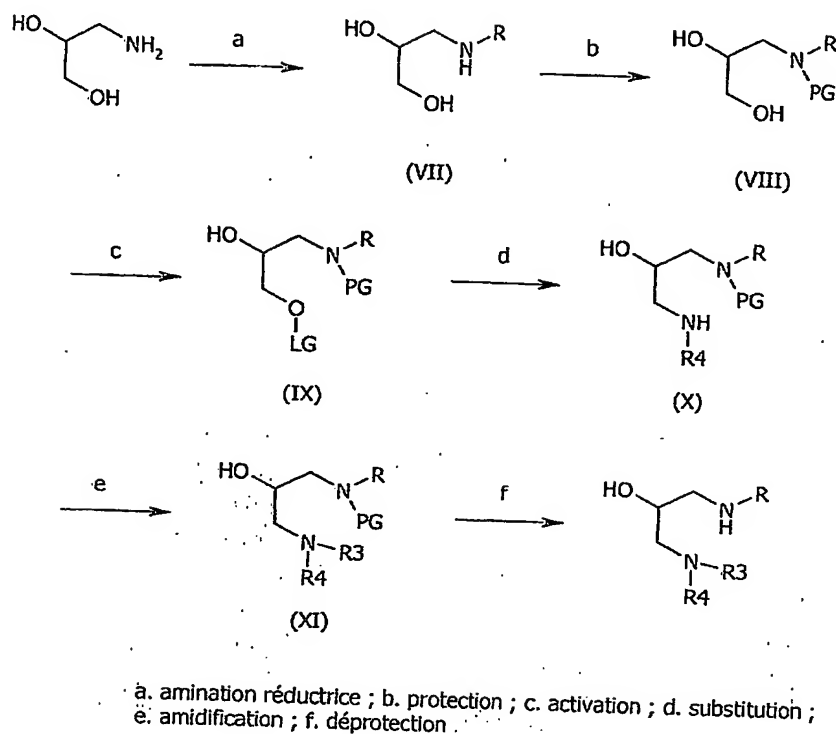


Schéma 3

Selon un second mode (schéma 4), les composés de formule (I) selon l'invention dans laquelle (i) G3 est un atome d'oxygène, (ii) G2 représente un groupe N-R4, (iii) R et R4 représentent des groupes alkyle linéaires ou ramifiés différents, saturés ou non, éventuellement substitués, comportant de 1 à 5 atomes de carbones, (iv) R1 et R3 sont des atomes d'hydrogène et (v) R2 représente un groupe CO-R5 ou un groupe CO-(CH₂)_{2n+1}-X-R6 sont obtenus de la façon suivante :

a) réaction d'un composé de formule (VIII) avec un composé PG'-E dans lequel PG' est un groupement protecteur et E est un groupe réactif choisi par exemple parmi OH ou un halogène, pour donner un composé de formule générale (XII) dans laquelle R représente un groupe alkyle

~~linéaire ou ramifié, saturé ou non, éventuellement substitué, comportant~~

de 1 à 5 atomes de carbones et PG un autre groupement protecteur tel que défini plus avant. La réaction peut avantageusement être mise en œuvre en adaptant les protocoles décrits par (Marx, Piantadosi et al. 1988) et (Gaffney and Reese 1997) dans lesquels PG'-E peut représenter le chlorure de triphénylméthyle ou le 9-phénylxanthène-9-ol ou encore le 9-chloro-9-phénylxanthène ;

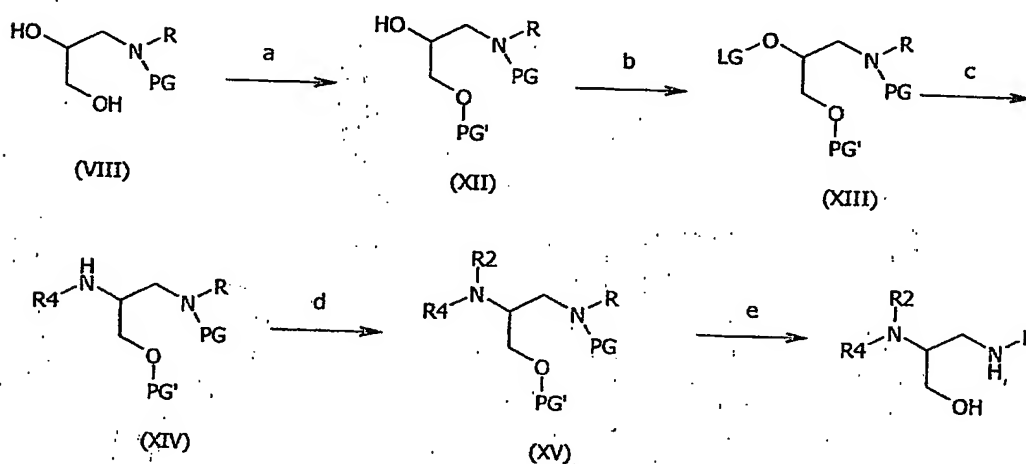
b) réaction d'un composé de formule (XII) tel que défini ci-avant avec un composé de formule LG-E dans laquelle E représente un halogène et LG un groupe réactif choisi par exemple parmi mésyle, tosyle, etc., pour donner un composé de formule générale (XIII) dans laquelle R représente un groupe alkyle linéaire ou ramifié, saturé ou non, éventuellement substitué, comportant de 1 à 5 atomes de carbones et PG et PG' sont des groupements protecteurs, en adaptant la procédure décrite par (Kitchin, Bethell et al. 1994) ;

c) réaction d'un composé de formule (XIII) tel que défini ci-avant avec un composé de formule R4-NH₂ dans laquelle R4 représente un groupe alkyle linéaire ou ramifié, saturé ou non, éventuellement substitué, comportant de 1 à 5 atomes de carbones et NH₂ représente la fonction amine, selon la méthode décrite par (Ramalingan, Raju et al. 1995), pour obtenir un composé de formule (XIV) dans laquelle R et R4 sont indépendamment tels que définis ci-avant ;

d) réaction d'un composé de formule (XIV) avec un composé de formule A°-CO-A2 dans laquelle A2 est un groupe réactif choisi par exemple entre OH et Cl, et A° est le groupe R5 ou le groupe (CH₂)_{2n+1}-X-R6, en présence éventuellement d'agents de couplage ou d'activateurs connus de l'homme de métier pour obtenir un composé de formule (XV) dans laquelle R et R4 représentent indépendamment des groupes alkyle linéaires ou ramifiés, saturés ou non, éventuellement substitués, comportant de 1 à 5 atomes

de carbones, R2 représente un groupe CO-R5 ou un groupe CO-(CH₂)_{2n+1}-X-R6, PG et PG' sont des groupements protecteurs ;

- e) déprotection d'un composé de formule (XV) dans des conditions classiques connues de l'homme du métier pour obtenir un composé de formule générale (I) selon l'invention dans laquelle (i) R et R4 représentent indépendamment des groupes alkyle linéaires ou ramifiés, saturés ou non, éventuellement substitués, comportant de 1 à 5 atomes de carbones, (ii) R1 et R3 sont des atomes d'hydrogène et (iii) R2 représente un groupe CO-R5 ou un groupe CO-(CH₂)_{2n+1}-X-R6.



a. protection ; b. activation ; c. substitution ; d. amidification ; e. déprotection

Schéma 4

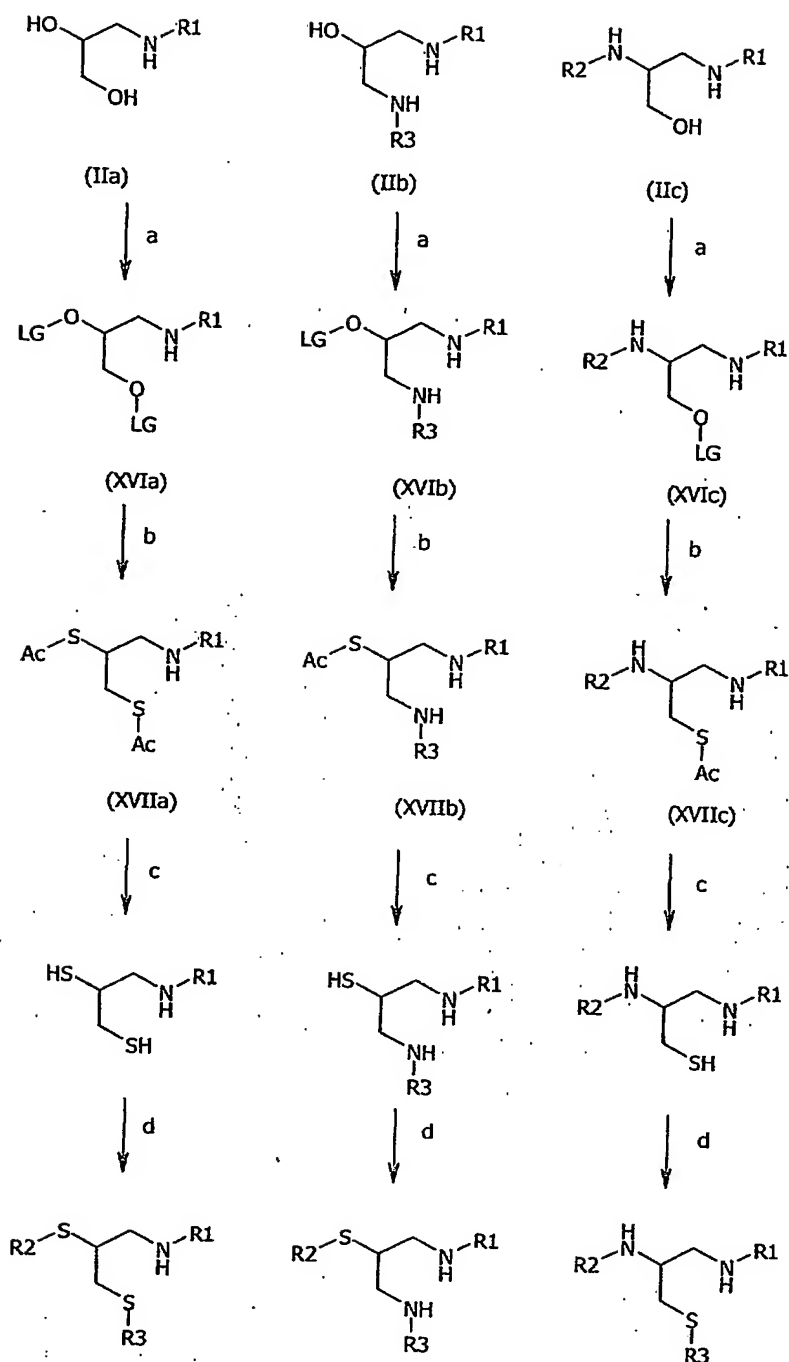
Les composés de formule (I) selon l'invention dans laquelle (i) G2 et G3 sont des atomes de soufre ou un groupe NH, (ii) R est un atome d'hydrogène et (iii) R1, R2 et R3 sont des atomes d'hydrogène ou représentent un groupe CO-R5 ou CO-(CH₂)_{2n+1}-X-R6 peuvent être obtenus selon différents procédés.

Selon un premier mode, les composés de formule (I) selon l'invention dans laquelle (i) G2 et G3 sont des atomes de soufre ou un groupe NH, (ii) R est un atome d'hydrogène et (iii) R1, R2 et R3 sont des atomes d'hydrogène ou représentent un groupe CO-R5 ou CO-(CH₂)_{2n+1}-X-R6, R1, R2 et R3 ayant même

~~signification s'ils sont portés par un même hétéroatome (soufre ou azote),~~

peuvent être obtenus de la façon suivante (schéma 5) :

- 5 a) réaction d'un composé de formule (IIa-c) avec un composé de formule LG-E dans laquelle E représente un halogène et LG un groupe réactif choisi par exemple parmi mésyle, tosyle, etc., pour donner un composé de formule générale (XVIa-c) ;
- 10 b) réaction d'un composé de formule (XVIa-c) avec un composé de formule $\text{Ac-S}^-\text{B}^+$ dans laquelle Ac représente un groupe acyle court, préférentiellement le groupe acétyle, et B est un contre-ion choisi par exemple parmi le sodium ou le potassium, préférentiellement le potassium pour donner le composé de formule générale (XVIIa-c). Cette réaction peut avantageusement être mise en œuvre en adaptant le protocole décrit
- 15 par (Gronowitz, Herslöf et al. 1978) ;
- 20 c) déprotection d'un composé de formule (XVIIa-c), dans des conditions classiques connues de l'homme de métier, et par exemple en milieu basique, pour donner un composé de formule générale (I) dans laquelle (i) G2 et G3 représentent un atome de soufre ou un groupe NH et (ii) R1, R2 et R3, identiques ou différents, représentent un atome d'hydrogène ou un groupe CO-R5 ou $\text{CO-(CH}_2\text{)}_{2n+1}\text{-X-R6}$;
- 25 d) réaction d'un composé de formule générale (I) dans laquelle (i) G2 et G3 représentent un atome de soufre ou un groupe NH et (ii) R1, R2 et R3, identiques ou différents, représentent un atome d'hydrogène ou un groupe CO-R5 ou $\text{CO-(CH}_2\text{)}_{2n+1}\text{-X-R6}$, avec un composé de formule $\text{A}^\circ\text{-CO-A2}$ dans laquelle A2 est un groupe réactif choisi par exemple entre OH et Cl, et A° est le groupe R5 ou le groupe $\text{(CH}_2\text{)}_{2n+1}\text{-X-R6}$, en présence
- 30 éventuellement d'agents de couplage ou d'activateurs connus de l'homme de métier.



a. activation ; b. substitution ; c. déprotection ; d. acylation

schéma 5

5 Ce schéma réactionnel permet la synthèse de composés de formule générale (I) dans laquelle les groupements portés par un même hétéroatome (azote ou

~~soufre) respectivement (R2 et R3), (R1 et R3) et (R1 et R2) ont même~~
signification.

Les étapes ci-dessus peuvent être réalisées avantageusement selon les protocoles décrits par (Adams, Doyle et al. 1960) et (Gronowitz, Herslöf et al. 1978).

Selon un autre procédé de l'invention (schéma 6), les composés de formule (I) selon l'invention dans laquelle (i) G2 et G3 sont des atomes de soufre ou un groupe NH, (ii) R est un atome d'hydrogène et (iii) R1, R2 et R3 sont des atomes d'hydrogène ou représentent un groupe CO-R5 ou CO-(CH₂)_{2n+1}-X-R6 peuvent être préparés à partir des composés de formule (IIIa-c) par un procédé comprenant :

a) la réaction d'un composé de formule (IIIa-c) avec un composé de formule LG-E dans laquelle E représente un halogène et LG un groupe réactif choisi par exemple parmi mésyle, tosyle, etc., pour donner un composé de formule générale (XVIIIa-c) dans laquelle PG représente un groupement protecteur ;

b) la réaction d'un composé de formule (XVIIIa-c) avec un composé de formule Ac-S⁻B⁺ dans laquelle Ac représente un groupe acyle court, préférentiellement le groupe acétyle, et B est un contre-ion choisi par exemple parmi le sodium ou le potassium, préférentiellement le potassium pour donner le composé de formule générale (XIXa-c). Cette réaction peut avantageusement être mise en œuvre en adaptant le protocole décrit par (Gronowitz, Herslöf et al. 1978) ;

c) la déprotection de l'atome de soufre d'un composé (XIXa-c) dans des conditions connues de l'homme de métier, pour donner un composé de formule générale (XXa-c) ;

d) la réaction d'un composé de formule générale (XXa-c) avec un composé de formule A°-CO-A2 dans laquelle A2 est un groupe réactif

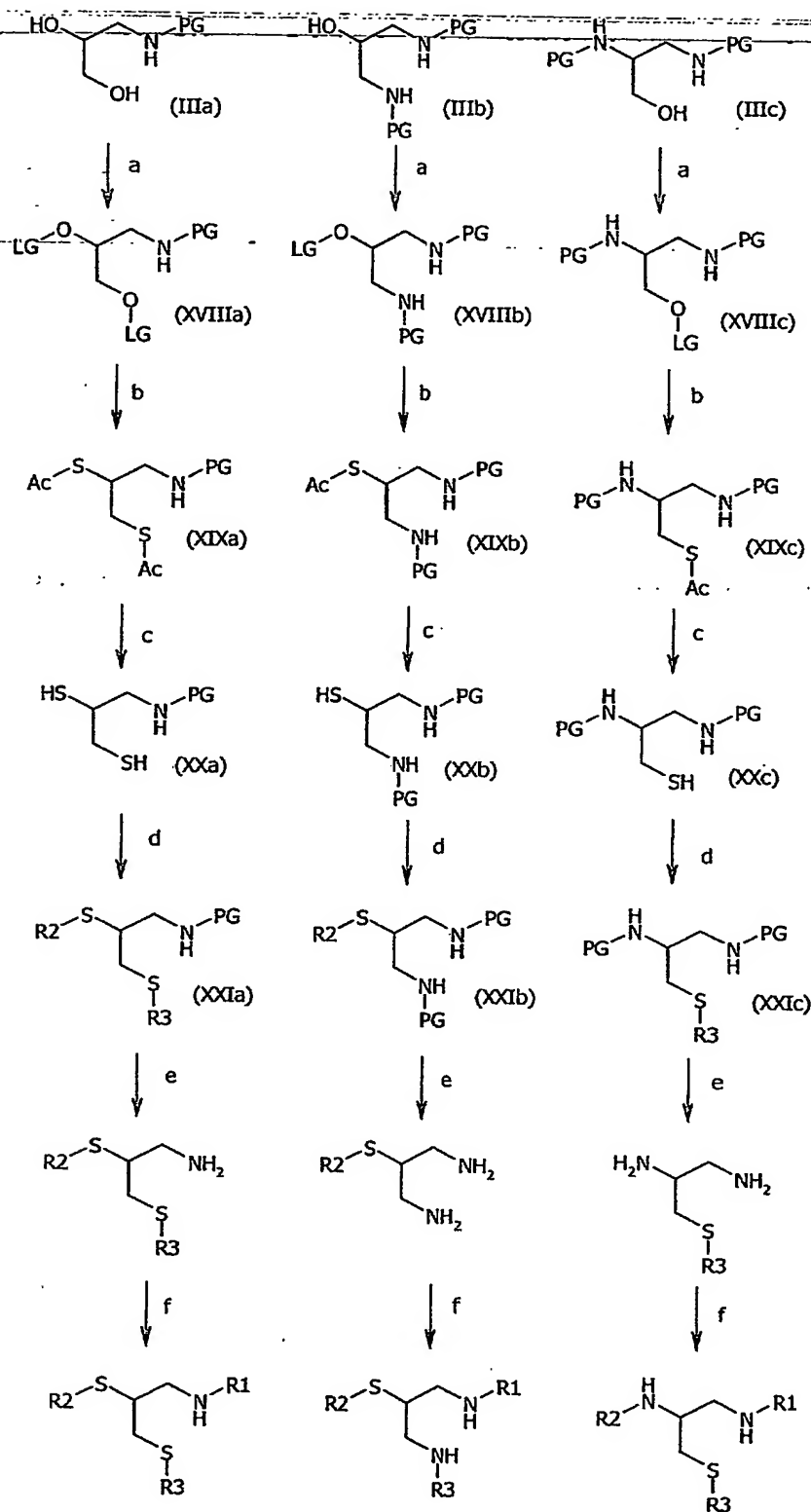
choisi par exemple entre OH et Cl, et A° est le groupe R5 ou le groupe $(CH_2)_{2n+1}-X-R6$, en présence éventuellement d'agents de couplage ou d'activateurs connus de l'homme de métier pour obtenir un composé de formule générale (XXIa-c) dans laquelle R2 et R3 représentent un groupe CO-R5 ou $CO-(CH_2)_{2n+1}-X-R6$;

e) la déprotection d'un composé de formule (XXIa-c) dans des conditions classiques connues de l'homme de métier, pour obtenir un composé de formule (I) selon l'invention dans laquelle (i) G2 et G3 sont des atomes de soufre ou un groupe NH, (ii) R et R1 sont des atomes d'hydrogène et (iii) R2 et R3 représentent un atome d'hydrogène, un groupe CO-R5 ou $CO-(CH_2)_{2n+1}-X-R6$.

f) la réaction d'un composé de formule (I) selon l'invention dans laquelle (i) G2 et G3 sont des atomes de soufre ou un groupe NH, (ii) R et R1 sont des atomes d'hydrogène et (iii) R2 et R3 représentent un atome d'hydrogène, un groupe CO-R5 ou $CO-(CH_2)_{2n+1}-X-R6$ avec un composé de formule $A^\circ-CO-A2$ dans laquelle A2 est un groupe réactif choisi par exemple entre OH et Cl, et A° est le groupe R5 ou le groupe $(CH_2)_{2n+1}-X-R6$, en présence éventuellement d'agents de couplage ou d'activateurs connus de l'homme de métier.

Ce schéma réactionnel permet la synthèse de composés de formule générale (I) dans laquelle les groupements portés par un même hétéroatome (azote ou soufre) respectivement (R2 et R3), (R1 et R3) et (R1 et R2) ont même signification.

Les étapes ci-dessus peuvent être réalisées avantageusement selon les protocoles décrits par (Adams, Doyle et al. 1960), (Gronowitz, Herslöf et al. 1978), (Bhatia and Hajdu 1987) et (Murata, Ikoma et al. 1991).



a. activation ; b. substitution ; c. déprotection ; d. acylation ; e. déprotection ; f. amidification

schéma 6

Les composés de formule générale (I) dans lesquels (i) G2 et G3 représentent des atomes de soufre ou un groupe N-R4, (ii) R et R4 représentent indépendamment un groupe alkyle linéaire ou ramifié, saturé ou non, éventuellement substitué, comportant de 1 à 5 atomes de carbones, (iii) R1, R2 et R3, identiques ou différents, représentent un groupe CO-R5 ou un groupe CO-(CH₂)_{2n+1}-X-R6, sont obtenus par réaction d'un composé de formule générale (I) dans laquelle (i) le groupe G2 ou G3 représentent un atome de soufre ou un groupe N-R4, (ii) R et R4 représentent indépendamment des groupes tels que définis ci-avant, (iii) R1 est un atome d'hydrogène et (iv) R2 et R3, identiques ou différents, représentent un groupe CO-R5 ou un groupe CO-(CH₂)_{2n+1}-X-R6 avec un composé de formule A°-CO-A2 dans laquelle A2 est un groupe réactif choisi par exemple entre OH et Cl, et A° est le groupe R5 ou le groupe (CH₂)_{2n+1}-X-R6, en présence éventuellement d'agents de couplage ou d'activateurs connus de l'homme de métier.

Les composés de formule générale (I) dans laquelle (i) le groupe G2 et G3 représentent des atomes de soufre ou un groupe N-R4, (ii) R et R4 représentent indépendamment des groupes tels que définis ci-avant, (iii) R1 est un atome d'hydrogène et (iv) R2 et R3, identiques ou différents, représentent un groupe CO-R5 ou un groupe CO-(CH₂)_{2n+1}-X-R6, peuvent être obtenus selon les méthodes suivantes :

Dans un premier mode (schéma 7), les composés de formule (I) selon l'invention dans laquelle (i) le groupe G2 est un atome de soufre, (ii) G3 représente un groupe N-R4, (iii) R et R4 représentent indépendamment des groupes alkyle linéaires ou ramifiés différents, saturés ou non, éventuellement substitués, comportant de 1 à 5 atomes de carbones, (iv) R1 est un atome d'hydrogène et (v) R2 et R3, identiques ou différents, représentent un groupe CO-R5 ou un groupe CO-(CH₂)_{2n+1}-X-R6 sont obtenus de la façon suivante :

~~a) réaction d'un composé de formule (XI) avec un composé de formule LG-E~~

dans laquelle E représente un halogène et LG un groupe réactif choisi par exemple parmi mésyle, tosyle, etc., pour donner un composé de formule générale (XXII) dans laquelle PG représente un groupement protecteur ;

5

b) réaction d'un composé de formule (XXII) avec un composé de formule $Ac-S^+B^-$ dans laquelle Ac représente un groupe acyle court, préférentiellement le groupe acétyle, et B est un contre-ion choisi par exemple parmi le sodium ou le potassium, préférentiellement le potassium pour donner le composé de formule générale (XXIII). Cette réaction peut avantageusement être mise en œuvre en adaptant le protocole décrit par (Gronowitz, Herslöf et al. 1978) ;

10

c) déprotection de l'atome de soufre d'un composé de formule (XXIII) dans des conditions classiques connues de l'homme de métier pour donner un composé de formule générale (XXIV) ;

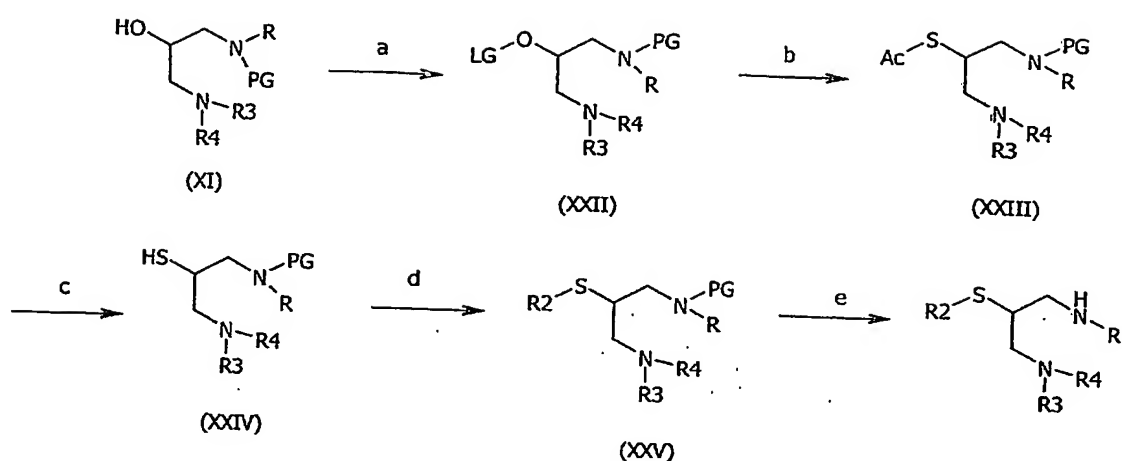
15

d) réaction d'un composé de formule générale (XXIV) avec un composé de formule $A^{\circ}-CO-A2$ dans laquelle A2 est un groupe réactif choisi par exemple entre OH et Cl, et A° est le groupe R5 ou le groupe $(CH_2)_{2n+1}-X-R6$, en présence éventuellement d'agents de couplage ou d'activateurs connus de l'homme de métier pour obtenir un composé de formule générale (XXV) dans laquelle R2 et R3, identiques ou différents, représentent un groupe $CO-R5$ ou $CO-(CH_2)_{2n+1}-X-R6$;

20

25

e) déprotection du composé de formule (XXV) dans des conditions connues de l'homme de métier.



a. activation ; b. substitution ; c. déprotection ; d. acylation ; e. déprotection

schéma 7

Selon une autre méthode (schéma 8), les composés de formule (I) selon l'invention dans laquelle (i) G2 représente un groupe N-R4, (ii) G3 est un atome de soufre, , (iii) R et R4 représentent indépendamment des groupes alkyle linéaires ou ramifiés différents, saturés ou non, éventuellement substitués, comportant de 1 à 5 atomes de carbones, (iv) R1 est un atome d'hydrogène et (v) R2 et R3, identiques ou différents, représentent un groupe CO-R5 ou un groupe CO-(CH₂)_{2n+1}-X-R6 sont obtenus de la façon suivante :

a) réaction du composé de formule (IX) avec un composé de formule Ac-S⁻B⁺ dans laquelle Ac représente un groupe acyle court, préférentiellement le groupe acétyle, et B est un contre-ion choisi par exemple parmi le sodium ou le potassium, préférentiellement le potassium pour donner le composé de formule générale (XXVI). Cette réaction peut avantageusement être mise en œuvre en adaptant le protocole décrit par (Gronowitz, Herslöf et al. 1978) ;

b) réaction d'un composé de formule (XXVI) avec un composé de formule LG-E dans laquelle E représente un halogène et LG un groupe réactif choisi par exemple parmi mésyle, tosyle, etc., pour donner un composé de formule générale (XXVII) dans laquelle PG représente un groupement protecteur ;

c) réaction du composé (XXVII) avec un composé de formule R_4-NH_2 dans laquelle R_4 représente un groupe alkyle linéaire ou ramifié, saturé ou non, éventuellement substitué, comportant de 1 à 5 atomes de carbones et NH_2 représente la fonction amine, selon la méthode décrite par (Ramalingan, Raju et al. 1995), pour obtenir un composé de formule (XXVIII) dans laquelle R et R_4 , représentent indépendamment des groupes alkyle linéaires ou ramifiés différents, saturés ou non, éventuellement substitués, comportant de 1 à 5 atomes de carbones ;

10

d) réaction d'un composé de formule générale (XXVIII) avec un composé de formule $A^\circ-CO-A_2$ dans laquelle A_2 est un groupe réactif choisi par exemple entre OH et Cl, et A° est le groupe R_5 ou le groupe $(CH_2)_{2n+1}-X-R_6$, en présence éventuellement d'agents de couplage ou d'activateurs connus de l'homme de métier pour obtenir un composé de formule générale (XXIX) ;

15

e) déprotection de l'atome de soufre d'un composé de formule (XXIX) dans des conditions classiques connues de l'homme de métier pour donner un composé de formule générale (XXX) ;

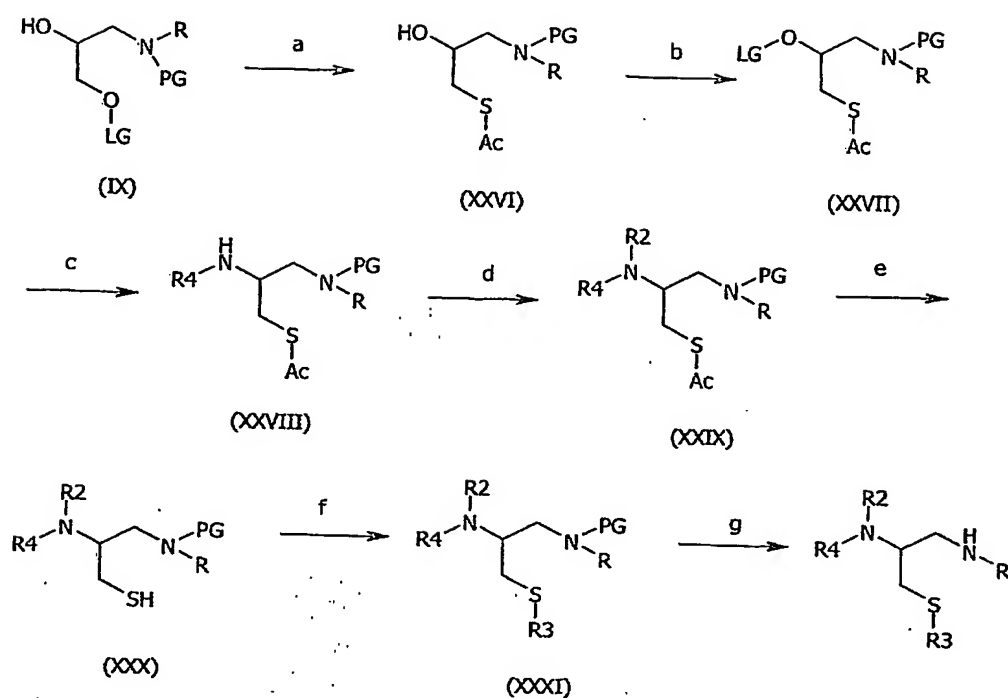
20

f) réaction d'un composé de formule générale (XXX) avec un composé de formule $A^\circ-CO-A_2$ dans laquelle A_2 est un groupe réactif choisi par exemple entre OH et Cl, et A° est le groupe R_5 ou le groupe $(CH_2)_{2n+1}-X-R_6$, en présence éventuellement d'agents de couplage ou d'activateurs connus de l'homme de métier pour obtenir un composé de formule générale (XXXI) dans laquelle R_2 et R_3 , identiques ou différents, représentent un groupe $CO-R_5$ ou $CO-(CH_2)_{2n+1}-X-R_6$;

25

g) déprotection d'un composé de formule (XXXI) dans des conditions classiques connues de l'homme de métier.

30



a. substitution ; b. activation ; c. substitution ; d. amidification ; e. déprotection ; f. acylation ; g. déprotection

schéma 8

Les composés de formule (I) selon l'invention dans laquelle (i) G2 est un atome de soufre, (ii) G3 est un atome d'oxygène, (iii) R est un atome d'hydrogène, (iv) R1 et R2 représentent un groupe CO-R5 ou CO-(CH₂)_{2n+1}-X-R6 et (v) R3 est un atome d'hydrogène ou représente un groupe CO-R5 ou CO-(CH₂)_{2n+1}-X-R6, peuvent être préparés à partir des composés de formule (V) par le procédé suivant (schéma 9):

a) réaction du composé (V) avec un composé de formule LG-E dans laquelle E représente un halogène et LG un groupe réactif choisi par exemple parmi mésyle, tosyle, etc., pour donner un composé de formule générale (XXXII) dans laquelle PG représente un groupement protecteur ;

b) réaction d'un composé de formule (XXXII) avec un composé de formule Ac-S⁻B⁺ dans laquelle Ac représente un groupe acyle court, préférentiellement le groupe acétyle, et B est un contre-ion choisi par exemple parmi le sodium ou le potassium, préférentiellement le potassium

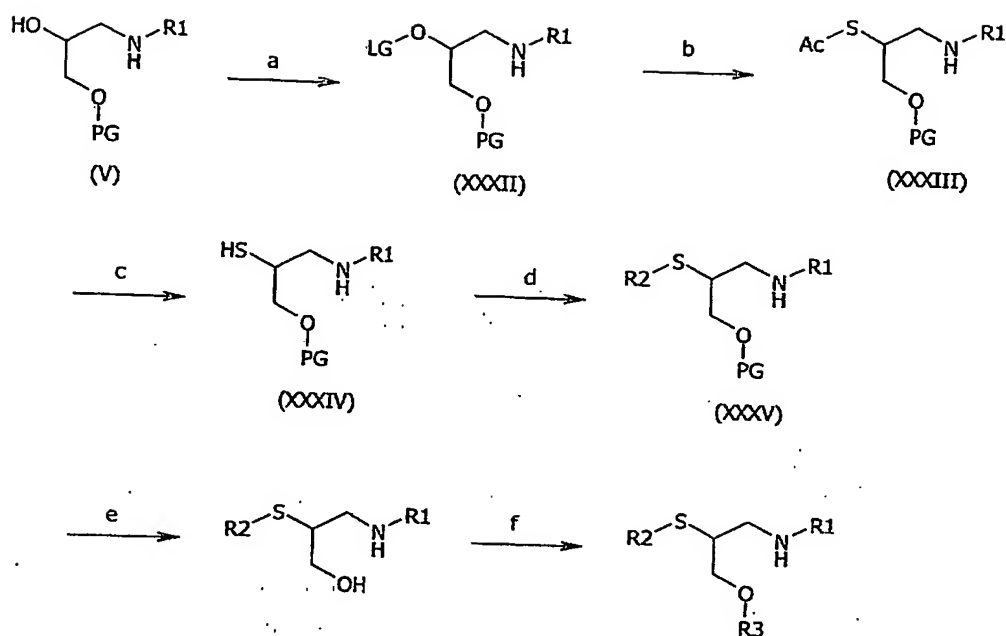
~~pour donner le composé de formule générale (XXXIII). Cette réaction peut~~
avantageusement être mise en œuvre en adaptant le protocole décrit par
(Gronowitz, Herslöf et al. 1978) ;

5 c) déprotection de l'atome de soufre d'un composé (XXXIII), dans des
conditions classiques connues de l'homme de métier, pour donner un
composé de formule générale (XXXIV) ;

10 d) réaction d'un composé de formule générale (XXXIV) avec un
composé de formule $A^{\circ}-CO-A2$ dans laquelle A2 est un groupe réactif
choisi par exemple entre OH et Cl, et A° est le groupe R5 ou le groupe
 $(CH_2)_{2n+1}-X-R6$, en présence éventuellement d'agents de couplage ou
d'activateurs connus de l'homme de métier pour obtenir un composé de
formule générale (XXXV) dans laquelle R1 et R2, identiques ou différents,
15 représentent un groupe CO-R5 ou $CO-(CH_2)_{2n+1}-X-R6$;

20 e) déprotection d'un composé (XXXV) dans des conditions classiques
connues de l'homme de métier pour donner un composé de formule
générale (I) dans laquelle G2 est un atome de soufre, G3 est un atome
d'oxygène, R et R3 sont des atomes d'hydrogène et R1 et R2, identiques
ou différents, représentent un groupe CO-R5 ou $CO-(CH_2)_{2n+1}-X-R6$;

25 f) réaction d'un composé de formule générale (I) dans laquelle (i) G2
est un atome de soufre, (ii) G3 est un atome d'oxygène, (iii) R et R3 sont
des atomes d'hydrogène et (iv) R1 et R2, identiques ou différents,
représentent un groupe CO-R5 ou $CO-(CH_2)_{2n+1}-X-R6$ avec un composé
de formule $A^{\circ}-CO-A2$ dans laquelle A2 est un groupe réactif choisi par
exemple entre OH et Cl, et A° est le groupe R5 ou le groupe $(CH_2)_{2n+1}-X-$
R6, en présence éventuellement d'agents de couplage ou d'activateurs
30 connus de l'homme de métier.



a. activation ; b. substitution ; c. déprotection ; d. acylation ; e. déprotection ; f. acylation

schéma 9

Les composés de formule (I) selon l'invention dans laquelle (i) G2 est un
 5 atome de soufre, (ii) G3 est un atome d'oxygène, (iii) R est un atome
 d'hydrogène, (iv) R1 et R3 représentent un atome d'hydrogène ou un groupe
 CO-R5 ou CO-(CH₂)_{2n+1}-X-R6, identiques ou différents, et (v) R2 représente un
 groupe CO-R5 ou CO-(CH₂)_{2n+1}-X-R6, peuvent être préparés à partir des
 composés de formule (IIIa) par le procédé suivant (schéma 10):

- 10
- a) réaction d'un composé de formule (IIIa) avec un composé PG'-E dans
 lequel PG' est un groupement protecteur et E est un groupe réactif choisi
 par exemple parmi OH ou un halogène, pour donner un composé de
 formule générale (XXXVI) dans laquelle PG est un autre groupe
 15 protecteur tel que défini plus -avant. La réaction peut avantageusement
 être mise en œuvre en adaptant les protocoles décrits par (Marx,
 Plantadosi et al. 1988) et (Gaffney and Reese 1997) dans lesquels PG-E
 peut représenter le chlorure de triphénylméthyle ou le 9-phénylxanthène-
 9-ol ou encore le 9-chloro-9-phénylxanthène ;

b) réaction du composé (XXXVI) avec un composé de formule LG-E dans laquelle E représente un halogène et LG un groupe réactif choisi par exemple parmi mésyle, tosyle, etc., pour donner un composé de formule générale (XXXVII) dans laquelle PG et PG' représentent des groupements protecteurs judicieusement choisis tels que définis plus avant ;

c) réaction d'un composé de formule (XXXVII) avec un composé de formule $\text{Ac-S}^-\text{B}^+$ dans laquelle Ac représente un groupe acyle court, préférentiellement le groupe acétyle, et B est un contre-ion choisi par exemple parmi le sodium ou le potassium, préférentiellement le potassium pour donner le composé de formule générale (XXXVIII). Cette réaction peut avantageusement être mise en œuvre en adaptant le protocole décrit par (Gronowitz, Herslöf et al. 1978) ;

d) déprotection de l'atome de soufre d'un composé (XXXVIII), dans des conditions classiques connues de l'homme de métier, pour donner un composé de formule générale (XXXIX) ;

e) réaction d'un composé de formule générale (XXXIX) avec un composé de formule $\text{A}^\circ\text{-CO-A2}$ dans laquelle A2 est un groupe réactif choisi par exemple entre OH et Cl, et A° est le groupe R5 ou le groupe $(\text{CH}_2)_{2n+1}\text{-X-R6}$, en présence éventuellement d'agents de couplage ou d'activateurs connus de l'homme de métier pour obtenir un composé de formule générale (XL) dans laquelle R2 représente un groupe CO-R5 ou $\text{CO-(CH}_2)_{2n+1}\text{-X-R6}$;

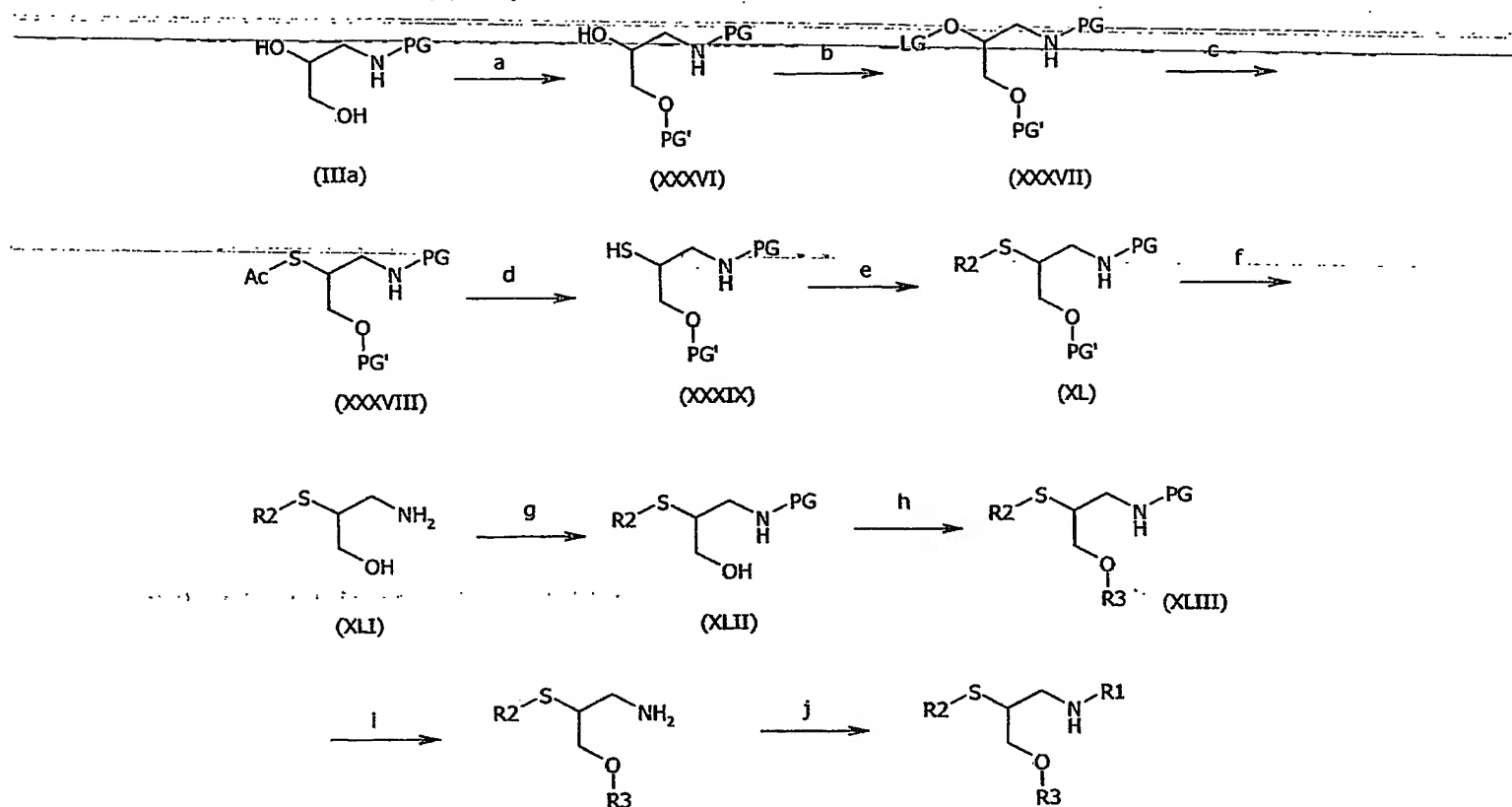
f) déprotection d'un composé (XL) dans des conditions classiques connues de l'homme de métier pour donner un composé de formule générale (I) dans laquelle G2 est un atome de soufre, G3 est un atome d'oxygène, R, R1 et R3 sont des atomes d'hydrogène et R2 représente un groupe CO-R5 ou $\text{CO-(CH}_2)_{2n+1}\text{-X-R6}$ (composé XLI) ;

g) réaction d'un composé de formule (XLI) avec un composé $(PG)_2O$ dans lequel PG est un groupement protecteur pour donner un composé de formule générale (XLII). La réaction peut avantageusement être mise en œuvre en adaptant les protocoles décrits par (Nazih, Cordier et al. 2000) et (Kotsovolou, Chiou et al. 2001) dans lesquels $(PG)_2O$ représente le dicarbonate de di-tert-butyle ;

h) réaction d'un composé de formule générale (XLII) avec un composé de formule $A^\circ-CO-A2$ dans laquelle A2 est un groupe réactif choisi par exemple entre OH et Cl, et A° est le groupe R5 ou le groupe $(CH_2)_{2n+1}-X-R6$, en présence éventuellement d'agents de couplage ou d'activateurs connus de l'homme de métier pour obtenir un composé de formule (XLIII) ;

i) déprotection d'un composé (XLIII) dans des conditions classiques connues de l'homme de métier pour donner un composé de formule générale (I) dans laquelle G2 est un atome de soufre, G3 est un atome d'oxygène, R et R1 sont des atomes d'hydrogène et R2 et R3, identiques ou différents, représentent un groupe $CO-R5$ ou $CO-(CH_2)_{2n+1}-X-R6$;

j) réaction d'un composé de formule générale (I) dans laquelle G2 est un atome de soufre, G3 est un atome d'oxygène, R et R1 sont des atomes d'hydrogène et R2 et R3, identiques ou différents, représentent un groupe $CO-R5$ ou $CO-(CH_2)_{2n+1}-X-R6$ avec un composé de formule $A^\circ-CO-A2$ dans laquelle A2 est un groupe réactif choisi par exemple entre OH et Cl, et A° est le groupe R5 ou le groupe $(CH_2)_{2n+1}-X-R6$, en présence éventuellement d'agents de couplage ou d'activateurs connus de l'homme de métier.



a. protection ; b. activation ; c. substitution ; d. déprotection ; e. acylation ; f. déprotection ; g : protection ; h : acylation ; i : déprotection ; j : amidification

schéma 10

5 Les composés de formule (I) selon l'invention dans laquelle (i) G2 est un atome d'oxygène, (ii) G3 est un atome de soufre, (iii) R est un atome d'hydrogène, (iv) R1 et R3 sont des atomes d'hydrogène ou représentent un groupe CO-R5 ou CO-(CH₂)_{2n+1}-X-R6 et (v) R2 représente un atome d'hydrogène ou un groupe CO-R5 ou CO-(CH₂)_{2n+1}-X-R6, peuvent être préparés à partir des

10 composés de formule (IIa) selon le procédé suivant (schéma 11) :

a) réaction d'un composé de formule (IIa) tel que défini ci-avant, avec un composé de formule LG-E (en quantité stoechiométrique) dans laquelle E représente un halogène et LG un groupe réactif choisi par exemple parmi mésyle, tosyle, etc., pour donner un composé de formule générale (XLIV) ;

b) réaction d'un composé de formule (XLIV) avec un composé de formule $\text{Ac-S}^-\text{B}^+$ dans laquelle Ac représente un groupe acyle court, préférentiellement le groupe acétyle, et B est un contre-ion choisi par exemple parmi le sodium ou le potassium, préférentiellement le potassium pour donner le composé de formule générale (XLV). Cette réaction peut avantageusement être mise en œuvre en adaptant le protocole décrit par (Gronowitz, Herslöf et al. 1978) ;

c) réaction d'un composé de formule (XLV) avec un composé PG-E dans lequel PG est un groupement protecteur et E est un groupe réactif choisi par exemple parmi OH ou un halogène, pour donner un composé de formule générale (XLVI). La réaction peut avantageusement être mise en œuvre en adaptant les protocoles décrits par (Marx, Piantadosi et al. 1988) et (Gaffney and Reese 1997), dans lesquels PG-E peut représenter le chlorure de triphénylméthyle ou le 9-phénylxanthène-9-ol ou encore le 9-chloro-9-phénylxanthène ;

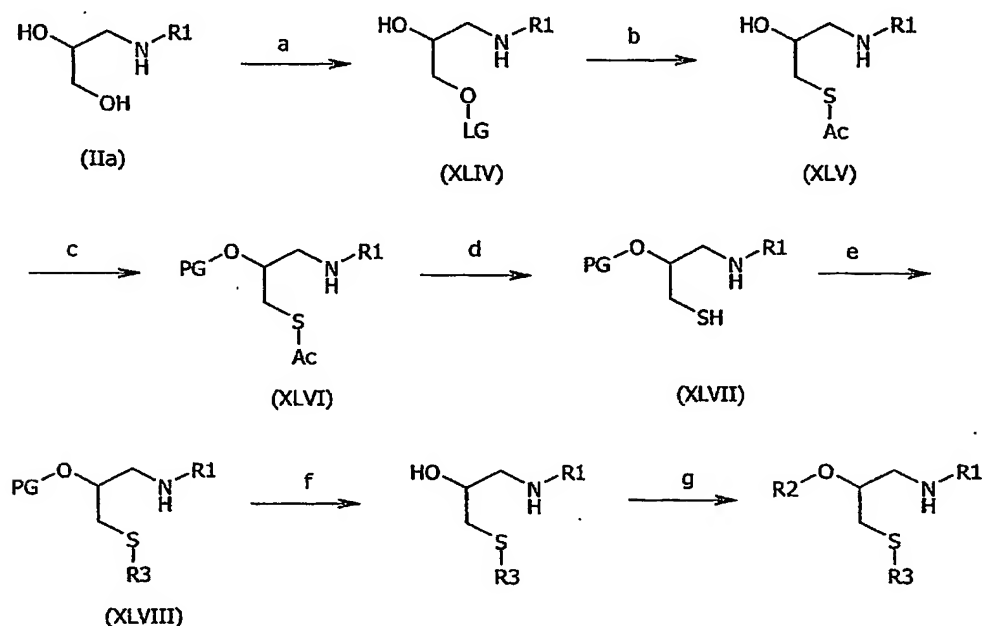
d) déprotection de l'atome de soufre d'un composé (XLVI), dans des conditions connues de l'homme de métier, pour donner un composé de formule générale (XLVII) ;

e) réaction d'un composé de formule générale (XLVII) avec un composé de formule $\text{A}^\circ\text{-CO-A2}$ dans laquelle A2 est un groupe réactif choisi par exemple entre OH et Cl, et A° est le groupe R5 ou le groupe $(\text{CH}_2)_{2n+1}\text{-X-R6}$, en présence éventuellement d'agents de couplage ou d'activateurs connus de l'homme de métier pour obtenir un composé de formule générale (XLVIII) dans laquelle R1 et R3, identiques ou différents, représentent un groupe CO-R5 ou $\text{CO-(CH}_2)_{2n+1}\text{-X-R6}$;

f) déprotection d'un composé de formule (XLVIII), dans des conditions classiques connues de l'homme de métier, pour donner un composé de formule générale (I) dans laquelle G2 est un atome d'oxygène, G3 est un

atome de soufre, R et R2 sont des atomes d'hydrogène et R1 et R3, identiques ou différents, représentent un groupe CO-R5 ou CO-(CH₂)_{2n+1}-X-R6 ;

5 g) réaction d'un composé de formule générale (I) dans laquelle G2 est un atome d'oxygène, G3 est un atome de soufre, R et R2 sont des atomes d'hydrogène et R1 et R3, identiques ou différents, représentent un groupe CO-R5 ou CO-(CH₂)_{2n+1}-X-R6 avec un composé de formule A°-CO-A2 dans laquelle A2 est un groupe réactif choisi par exemple entre OH et Cl, et A° est le groupe R5 ou le groupe (CH₂)_{2n+1}-X-R6, en présence éventuellement d'agents de couplage ou d'activateurs connus de l'homme de métier.



a. activation ; b. substitution ; c. protection ; d. déprotection sélective ; e. acylation ;
f. déprotection ; g. acylation

schéma 11

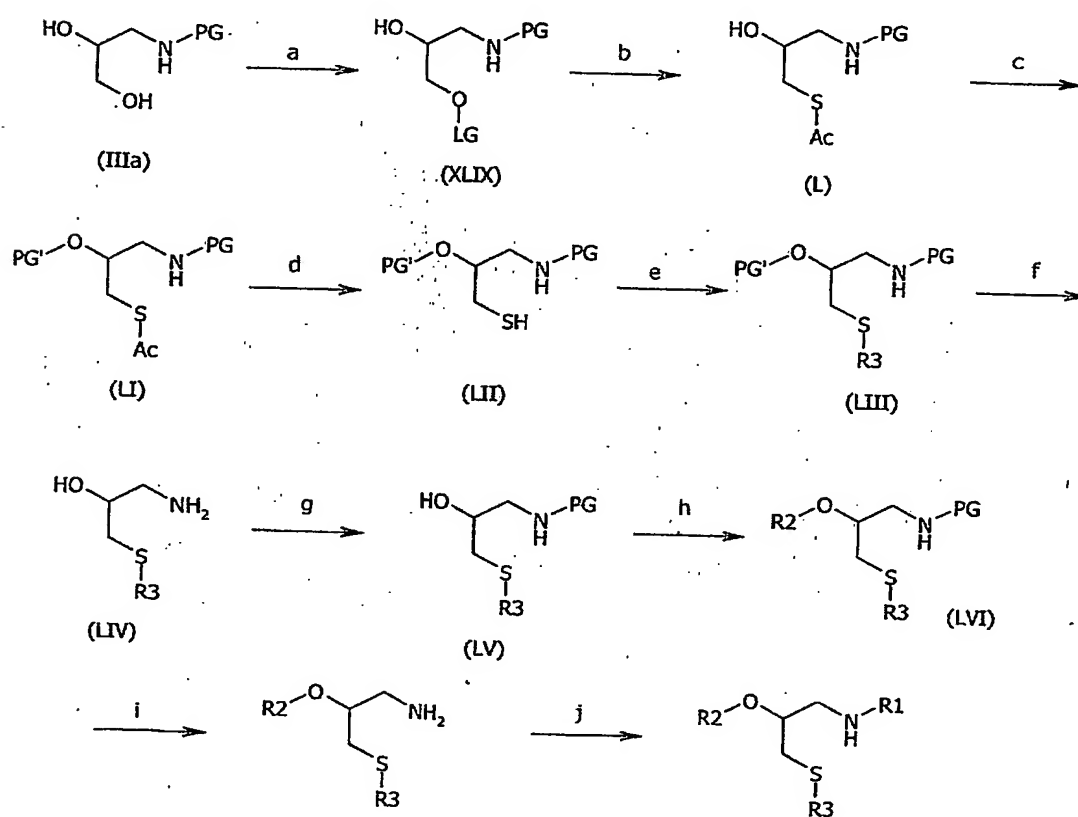
Les composés de formule (I) selon l'invention dans laquelle (i) G2 est un atome d'oxygène, (ii) G3 est un atome de soufre, (iii) R est un atome d'hydrogène, (iv)

R1 et R3 sont des atomes d'hydrogène ou représentent un groupe CO-R5 ou CO-(CH₂)_{2n+1}-X-R6, identiques ou différents, et (v) R3 représente un groupe CO-R5 ou CO-(CH₂)_{2n+1}-X-R6, peuvent être préparés à partir des composés de formule (IIIa) selon le procédé suivant (schéma 12) :

- a) réaction d'un composé de formule (IIIa) tel que défini ci-avant, avec un composé de formule LG-E (en quantité stoechiométrique) dans laquelle E représente un halogène et LG un groupe réactif choisi par exemple parmi mésyle, tosylo, etc., pour donner un composé de formule générale (XLIX) ;
- b) réaction d'un composé de formule (XLIX) avec un composé de formule Ac-S⁻B⁺ dans laquelle Ac représente un groupe acyle court, préférentiellement le groupe acétylo, et B est un contre-ion choisi par exemple parmi le sodium ou le potassium, préférentiellement le potassium pour donner le composé de formule générale (L). Cette réaction peut avantageusement être mise en œuvre en adaptant le protocole décrit par (Gronowitz, Herslöf et al. 1978) ;
- c) réaction d'un composé de formule (L) avec un composé PG'-E dans lequel PG' est un groupement protecteur et E est un groupe réactif choisi par exemple parmi OH ou un halogène, pour donner un composé de formule générale (LI). La réaction peut avantageusement être mise en œuvre en adaptant les protocoles décrits par (Marx, Piantadosi et al. 1988) et (Gaffney and Reese 1997) dans lesquels PG'-E peut représenter le chlorure de triphénylméthyle ou le 9-phénylxanthène-9-ol ou encore le 9-chloro-9-phénylxanthène ;
- d) déprotection de l'atome de soufre d'un composé (LI), dans des conditions connues de l'homme de métier, pour donner un composé de formule générale (LII) ;

- e) réaction d'un composé de formule générale (LII) avec un composé de
 formule $A^{\circ}-CO-A2$ dans laquelle A2 est un groupe réactif choisi par
 exemple entre OH et Cl, et A° est le groupe R5 ou le groupe $(CH_2)_{2n+1}-X-$
 R6, en présence éventuellement d'agents de couplage ou d'activateurs
 connus de l'homme de métier pour obtenir un composé de formule
 générale (LIII) dans laquelle R3 représente un groupe CO-R5 ou CO-
 $(CH_2)_{2n+1}-X-R6$;
- f) déprotection d'un composé de formule (LIII), dans des conditions
 classiques connues de l'homme de métier, pour donner un composé de
 formule générale (IB) dans laquelle G2 est un atome d'oxygène, G3 est un
 atome de soufre, R et R2 sont des atomes d'hydrogène et R3 représente
 un groupe CO-R5 ou CO- $(CH_2)_{2n+1}-X-R6$ (composé LIV) ;
- k) réaction d'un composé de formule (LIV) avec un composé $(PG)_2O$ dans
 lequel PG est un groupement protecteur pour donner un composé de
 formule générale (LV). La réaction peut avantageusement être mise en
 œuvre en adaptant les protocoles décrits par (Nazih, Cordier et al. 2000)
 et (Kotsovolou, Chiou et al. 2001) dans lesquels $(PG)_2O$ représente le
 dicarbonate de di-tert-butyle ;
- l) réaction d'un composé de formule générale (LV) avec un composé de
 formule $A^{\circ}-CO-A2$ dans laquelle A2 est un groupe réactif choisi par
 exemple entre OH et Cl, et A° est le groupe R5 ou le groupe $(CH_2)_{2n+1}-X-$
 R6, en présence éventuellement d'agents de couplage ou d'activateurs
 connus de l'homme de métier pour obtenir un composé de formule (LVI) ;
- m) déprotection d'un composé (LVI) dans des conditions classiques connues
 de l'homme de métier pour donner un composé de formule générale (I)
 dans laquelle G3 est un atome de soufre, G2 est un atome d'oxygène, R
 et R1 sont des atomes d'hydrogène et R2 et R3, identiques ou différents,
 représentent un groupe CO-R5 ou CO- $(CH_2)_{2n+1}-X-R6$;

n) réaction d'un composé de formule générale (I) dans laquelle G3 est un atome de soufre, G2 est un atome d'oxygène, R et R1 sont des atomes d'hydrogène et R2 et R3, identiques ou différents, représentent un groupe CO-R5 ou CO-(CH₂)_{2n+1}-X-R6 avec un composé de formule A°-CO-A2 dans laquelle A2 est un groupe réactif choisi par exemple entre OH et Cl, et A° est le groupe R5 ou le groupe (CH₂)_{2n+1}-X-R6, en présence éventuellement d'agents de couplage ou d'activateurs connus de l'homme de métier.



a. activation ; b. substitution ; c. protection ; d. déprotection ; e. acylation ; f. déprotection ; g : protection ; h : acylation ; i : déprotection ; j : amidification

schéma 12

La faisabilité, la réalisation et d'autres avantages de l'invention sont illustrés plus en détails dans les exemples qui suivent, qui doivent être considérés comme illustratifs et non limitatifs.

LEGENDE DES FIGURES :

Figure 1 : Structure de composés particuliers selon l'invention dont la
5 préparation est décrite aux exemples 2, 4, 5, 6, 8 et 12 à 16 et notés sur la figure
respectivement 1A.2, 1A.4, 1A.5, 1A.6, 1A.8, 1A.12, 1A.13, 1A.14, 1A.15 et
1A.16.

Figure 2 : Evaluation des propriétés antioxydantes de composés selon
10 l'invention sur l'oxydation des LDL par le cuivre (Cu).

- **Figure 2-a :** formation de diènes conjugués en fonction du temps ou
Lag-Phase.
- **Figure 2-b :** vitesse de formation des diènes.
- **Figure 2-c :** quantité maximum de diènes conjugués formés.

Figure 3: Evaluation des propriétés d'agonistes PPAR α de composés selon
15 l'invention avec le système de transactivation Gal4/PPAR α .

EXEMPLES :

Pour faciliter la lecture du texte, les composés selon l'invention utilisés dans les
20 exemples de mesure ou d'évaluation d'activité seront notés de manière abrégée
telle que « Ex 2 » pour désigner le composé selon l'invention dont la préparation
est décrite à l'exemple 2.

Les chromatographies sur couche mince (CCM) ont été effectuées sur des
25 plaques de gel de silice 60F₂₅₄ MERCK d'épaisseur 0,2 mm. On utilise
l'abréviation R_f pour désigner le facteur de rétention (retention factor).

Les chromatographies sur colonne ont réalisées sur gel de silice 60 de
30 granulométrie 40-63 μ m (référence 9385-5000 MERCK).

Les points de fusion (PF) ont été mesurés à l'aide d'un appareil BÜCHI B 540
par la méthode des capillaires.

Les spectres infra-rouge (IR) ont été réalisés sur un spectromètre à transformée de Fourier BRUKER (Vector 22).

Les spectres de résonance magnétique nucléaire (RMN) ont été enregistrés sur un spectromètre BRUKER AC 300 (300 MHz). Chaque signal est repéré par son déplacement chimique, son intensité, sa multiplicité et sa constante de couplage (J).

Les spectres de masse (SM) ont été réalisés sur un spectromètre PERKIN-ELMER SCIEX API 1 (ES-MS) ou sur un spectromètre de type MALDI-TOF.

10 **EXEMPLE 1 : Préparation de l'acide tétradécylthioacétique**

L'hydroxyde de potassium (34.30 g, 0.611 mol), l'acide mercaptoacétique (20.9 ml, 0.294 mol) et le 1-bromotétradécane (50 ml, 0.184 mol) sont ajoutés dans l'ordre au méthanol (400 ml). Ce mélange est placé sous agitation pendant une nuit à température ambiante. Au mélange réactionnel précédent est alors ajoutée une solution d'acide chlorhydrique concentré (60 ml) dissous dans l'eau (800 ml). L'acide tétradécylthioacétique précipite. Le mélange est laissé sous agitation une nuit à température ambiante. Le précipité est ensuite filtré, lavé cinq fois à l'eau puis séché au dessiccateur. Le produit est recristallisé dans le méthanol.

20 Rendement : 94%.

Rf (CH₂Cl₂-MeOH 9-1) : 0.60

PF°: 67-68°C

IR: ν_{CO} acide 1726 et 1684 cm⁻¹

25 RMN (¹H, CDCl₃) : 0.84-0.95 (t, 3H, -CH₃, J = 6.5 Hz) ; 1.20-1.45 (massif, 22H, -CH₂-) ; 1.55-1.69 (quint, 2H, -CH₂-CH₂-S-, J=6.5 Hz) ; 2.63-2.72 (t, 2H, CH₂-CH₂-S-, J = 7.3 Hz) ; 3.27 (s, 2H, S-CH₂-COOH)

SM (ES-MS) : M-1 = 287

30 **EXEMPLE 2 : Préparation du 3-(tétradécylthioacétylamino)propane-1,2-diol**

L'acide tétradécylthioacétique (exemple 1) (14.393 g ; 50 mmol) et le 3-amino-propane-1,2-diol (5 g ; 55 mmol) sont placés dans un ballon et chauffés à 190°C

pendant 1 heure. Le mélange réactionnel est ramené à température ambiante

puis repris par du chloroforme et lavé une fois à l'eau. La phase organique est séchée sur MgSO_4 filtrée et portée à sec. Le résidu est placé sous agitation dans l'éther. Le produit est isolé par filtration.

5 Rendement : 22%.

Rf (CH_2Cl_2 -MeOH 9-1) : 0.60

PF : 89-92°C

IR: ν_{NH} et OH 3282 cm^{-1} ; ν_{COamide} 1640 cm^{-1}

10 RMN (^1H , CDCl_3) : 0.89 (t, 3H, $-\text{CH}_3$, $J = 6.5\text{ Hz}$) ; 1.26 (massif, 22H, $-\text{CH}_2-$) ;
1.57 (m, 2H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CONH}-$) ; 2.54 (t, 2H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CONH}-$, $J = 7.6\text{ Hz}$) ;
3.27 (s, 2H, $\text{S}-\text{CH}_2-\text{CONH}-$) ; 3.47 (m, 2H, $-\text{CONH}-\text{CH}_2-\text{CHOH}-\text{CH}_2\text{OH}$) ; 3.58
(m, 1H, $-\text{CONH}-\text{CH}_2-\text{CHOH}-\text{CH}_2\text{OH}$) ; 3.81 (m, 2H, $-\text{CONH}-\text{CH}_2-\text{CHOH}-\text{CH}_2\text{OH}$) ;
7.33 (sl, 1H, $-\text{CONH}-$).

15 SM (MALDI-TOF) : $M+1 = 362$ ($M+H$) ; $M+23 = 385$ ($M+\text{Na}^+$) ; $M+39 = 400$
($M+\text{K}^+$)

EXEMPLE 3 : 3-(palmitoylamino)propane-1,2-diol

20 Ce composé est synthétisé selon la procédure précédemment décrite (exemple
2) à partir du 3-amino-propane-1,2-diol et de l'acide palmitique.

Rendement : 86%

Rf (CH_2Cl_2 -MeOH 9-1) : 0.50

IR: ν_{NH} et OH 3312 cm^{-1} ; ν_{COamide} 1633 cm^{-1}

PF : 104-108°C

25 RMN (^1H , CDCl_3) : 0.89 (t, 3H, $-\text{CH}_3$, $J = 6.5\text{ Hz}$) ; 1.28 (massif, 24H, $-\text{CH}_2-$) ;
1.64 (m, 2H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}-$) ; 2.24 (m, 2H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CONH}-$) ; 3.43 (m, 2H, $-\text{CONH}-\text{CH}_2-\text{CHOH}-\text{CH}_2\text{OH}$) ; 3.55 (m, 2H, $-\text{CONH}-\text{CH}_2-\text{CHOH}-\text{CH}_2\text{OH}$) ; 3.78
(m, 1H, $-\text{CONH}-\text{CH}_2-\text{CHOH}-\text{CH}_2\text{OH}$) ; 5.82 (sl, 1H, $-\text{CONH}-$).

SM (MALDI-TOF) : $M+1 = 330$ ($M+H$)

EXEMPLE 4 : Préparation du 1-tétradécylthioacétylamino-2,3-(dipalmitoyloxy)propane

Le 3-(tétradécylthioacétylamino)propane-1,2-diol (1 g ; 2.77 mmol) (exemple 2) est dissous dans le dichlorométhane (200 ml) puis la dicyclohexylcarbodiimide (1.426 g ; 6.91 mmol), la diméthylaminopyridine (0.845 g ; 6.91 mmol) et l'acide palmitique (1.773 g ; 6.91 mmol) sont ajoutés. Le mélange est laissé sous agitation à température ambiante pendant 48 heures. Le précipité de dicyclohexylurée est filtré et lavé au dichlorométhane. Le filtrat est évaporé sous vide. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant CH_2Cl_2 -cyclohexane 6-4) (rendement : 28%).

Rf (CH_2Cl_2 -cyclohexane 7-3) : 0.28

PF : 73-75°C

IR: ν_{NH} 3295 cm^{-1} ; CO_{ester} 1730 cm^{-1} ; ν_{COamide} 1663 cm^{-1}

RMN (^1H , CDCl_3) : 0.89 (t, 9H, $-\text{CH}_3$, $J = 6.5$ Hz) ; 1.26 (massif, 70H, $-\text{CH}_2-$) ; 1.57 (massif, 6H, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S}-$ et $\text{OCOCH}_2\text{CH}_2-$) ; 2.33 (t, 4H, $\text{OCOCH}_2\text{CH}_2-$, $J = 7.3$ Hz) ; 2.51 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S}-$, $J = 7.3$ Hz) ; 3.22 (s, 2H, $\text{S}-\text{CH}_2\text{CONH}-$) ; 3.47 (m, 1H, $-\text{CONH}-\text{CHaHb}-\text{CH}-\text{CHcHd}-$) ; 3.62 (m, 1H, $-\text{CONH}-\text{CHaHb}-\text{CH}-\text{CHcHd}-$) ; 4.12 (dd, 1H, $-\text{CHaHb}-\text{CH}-\text{CHcHd}-$, $J=12.1$ Hz et $J=5.7$ Hz) ; 4.36 (dd, 1H, $-\text{CHaHb}-\text{CH}-\text{CHcHd}-$, $J = 12.1$ Hz et $J = 4.4$ Hz) ; 5.15 (m, 1H, $-\text{CHaHb}-\text{CH}-\text{CHcHd}-$) ; 7.20 (m, 1H, $-\text{NHCO}-$).

SM (MALDI-TOF) : $M+1 = 838$ ($M+H$) ; $M+23 = 860$ ($M+\text{Na}^+$) ; $M+39 = 876$ ($M+\text{K}^+$)

EXEMPLE 5 : Préparation du 3-tétradécylthioacétylamino-1,2-(ditétradécylthioacétyloxy)propane

Ce composé est synthétisé selon la procédure précédemment décrite (exemple 4) à partir du 3-(tétradécylthioacétylamino)propane-1,2-diol (exemple 2) et de l'acide tétradécylthioacétique (exemple 1).

Rendement : 41%

Rf (CH_2Cl_2) : 0.23

IR: ν_{NH} 3308 cm^{-1} ; CO_{ester} 1722 et 1730 cm^{-1} ; ν_{COamide} 1672 cm^{-1}

PF : 65-67°C

RMN (^1H , CDCl_3) : 0.89 (t, 9H, $-\text{CH}_3$, $J = 6.4$ Hz) ; 1.26 (massif, 66H, $-\text{CH}_2-$) ; 1.59 (massif, 6H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}-$) ; 2.53 (t, 2H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CONH}-$, $J = 7.3$ Hz) ; 2.64 (t, 4H, $\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{COO}-$, $J = 7.3$ Hz) ; 3.23 (s, 4H, $\text{S}-\text{CH}_2-\text{COO}-$) ; 3.24 (s, 2H, $\text{S}-\text{CH}_2-\text{CONH}-$) ; 3.52 (m, 1H, $-\text{CONH}-\text{CHaHb}-\text{CH}-\text{CHcHd}-$) ; 3.67 (m, 1H, $-\text{CONH}-\text{CHaHb}-\text{CH}-\text{CHcHd}-$) ; 4.22 (dd, 1H, $-\text{CHaHb}-\text{CH}-\text{CHcHd}-$, $J=12.2$ Hz et $J=5.4$ Hz) ; 4.36 (dd, 1H, $-\text{CHaHb}-\text{CH}-\text{CHcHd}-$, $J = 12.2$ Hz et $J = 3.9$ Hz) ; 5.19 (m, 1H, $-\text{CHaHb}-\text{CH}-\text{CHaHb}-$) ; 7.18 (m, 1H, $-\text{NHCO}-$).

10 SM (MALDI-TOF) : $M+1 = 902$ ($M+H$) ; $M+23 = 924$ ($M+\text{Na}^+$) ; $M+39 = 940$ ($M+\text{K}^+$)

EXEMPLE 6 : Préparation du 3-palmitoylamino-1,2-(ditétradécylthioacétyloxy)propane

Ce composé est synthétisé selon la procédure précédemment décrite (exemple 4) à partir du 3-(palmitoylamino)propane-1,2-diol (exemple 3) et de l'acide tétradécylthioacétique (exemple 1).

Rendement : 8%

20 R_f (acétate d'éthyle-cyclohexane 2-8) : 0.33

IR: $\nu_{\text{NH}} 3319 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{COester}} 1735 \text{ cm}^{-1}$; $\nu_{\text{COamide}} 1649 \text{ cm}^{-1}$

PF : 82-83°C

RMN (^1H , CDCl_3) : 0.89 (t, 9H, $-\text{CH}_3$, $J = 6.4$ Hz) ; 1.26 (massif, 68H, $-\text{CH}_2-$) ; 1.60 (massif, 6H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}-$ et $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CONH}-$) ; 2.18 (t, 2H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CONH}-$, $J=6.8$ Hz) ; 2.64 (massif, 4H, $\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{COO}-$) ; 3.22 (s, 2H, $-\text{S}-\text{CH}_2-\text{COO}-$) ; 3.24 (s, 2H, $-\text{S}-\text{CH}_2-\text{COO}-$) ; 3.47 (m, 1H, $-\text{CONH}-\text{CHaHb}-\text{CH}-\text{CHcHd}-$) ; 3.62 (m, 1H, $-\text{CONH}-\text{CHaHb}-\text{CH}-\text{CHcHd}-$) ; 4.23 (dd, 1H, $-\text{CHaHb}-\text{CH}-\text{CHcHd}-$, $J=11.9$ Hz et $J=5.6$ Hz) ; 4.36 (dd, 1H, $-\text{CHaHb}-\text{CH}-\text{CHcHd}-$, $J = 12.2$ Hz et $J=4$ Hz) ; 5.15 (m, 1H, $-\text{CHaHb}-\text{CH}-\text{CHaHb}-$) ; 5.85 (m, 1H, $-\text{NHCO}-$).

30 SM (MALDI-TOF) : $M+1 = 870$ ($M+H$)

EXEMPLE 7 : Préparation du 1,3-di(oléoylamino)propan-2-ol

L'acide oléique (5.698 g ; 0.020 mol) et le 1,3-diaminopropan-2-ol (1 g ; 0.011 mol) sont placés dans un ballon et chauffés à 190°C pendant 2 heures. Le milieu réactionnel est ramené à température ambiante puis repris par du chloroforme et lavé par de l'eau. La phase aqueuse est extraite par du chloroforme et les phases organiques sont groupées, séchées sur sulfate de magnésium puis filtrées et évaporées à sec pour fournir un résidu huileux noir (6.64 g) qui est purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant CH₂Cl₂-MeOH 99-1). Le produit obtenu est ensuite lavé par de l'éther et filtré.

10 Rendement : 23%

Rf (CH₂Cl₂-MeOH 95-5) : 0.43

IR: ν_{NH} 3306 cm⁻¹; ν_{COamide} 1646 et 1630 cm⁻¹

PF : 88-92°C

15 RMN (¹H, CDCl₃) : 0.89 (t, 6H, -CH₃, J = 6.2 Hz) ; 1.28 (massif, 68H, -CH₂-) ; 1.61-1.66 (massif, 4H, -CH₂-CH₂-CONH-) ; 1.98-2.02 (massif, 8H, -CH₂-CH=CH-CH₂-) ; 2.23 (t, 4H, -CH₂-CH₂-CONH-, J = 7.0 Hz) ; 3.25-3.42 (massif, 4H, -CONH-CH₂-CH-CH₂-) ; 3.73-3.80 (m, 1H, -CONH-CH₂-CH-CH₂-) ; 5.30-5.41 (massif, 4H, -CH₂-CH=CH-CH₂-) ; 6.36 (massif, 2H, -NHCO-).

20 SM (MALDI-TOF) : M+1 = 619 (M+H⁺) ; M+23 = 641 (M+Na⁺) ; M+39 = 657 (M+K⁺)

EXEMPLE 8 : Préparation du 1,3-di(tétradécylthioacétylamino)propan-2-ol

25 Ce composé est synthétisé selon la procédure précédemment décrite (exemple 7) à partir du 1,3-diaminopropan-2-ol et de l'acide tétradécylthioacétique (exemple 1).

Rendement : 94%

Rf (CH₂Cl₂-MeOH 95-5) : 0.44

IR: ν_{NH} 3275 cm⁻¹; ν_{COamide} 1660 et 1633 cm⁻¹

30 PF : 101-104°C

RMN (¹H, CDCl₃) : 0.89 (t, 6H, -CH₃, J = 6.3 Hz) ; 1.28 (massif, 44H, -CH₂-) ; 1.57-1.62 (massif, 4H, -CH₂-CH₂-S-CH₂-CONH-) ; 2.55 (t, 4H, -CH₂-CH₂-S-CH₂-

CONH-, $J = 7.2$ Hz) ; 3.26 (s, 4H, -S-CH₂-CONH-) ; 3.32-3.36 (massif, 2H, -CONH-CH_aH_b-CH-CH_aH_b-NHCO-) ; 3.43-3.49 (massif, 2H, -CONH-CH_aH_b-CH-CH_aH_b-NHCO-) ; 3.82-3.84 (m, 1H, -CONH-CH₂-CH-CH₂-NHCO-) ; 7.44 (sl, 2H, -NHCO-).

5 SM (MALDI-TOF) : $M+23 = 653$ ($M+Na^+$) ; $M+39 = 669$ ($M+K^+$)

EXEMPLE 9 : Préparation du 1,3-di(stéaroylamino)propan-2-ol

Ce composé est synthétisé selon la procédure précédemment décrite (exemple 10 7) à partir du 1,3-diaminopropan-2-ol et de l'acide stéarique.

Rendement : 73%

Rf (CH₂Cl₂-MeOH 95-5) : 0.28

IR: ν_{NH} 3306 cm⁻¹; $\nu_{COamide}$ 1647 et 1630 cm⁻¹

PF : 123-130°C

15 SM (MALDI-TOF) : $M+23 = 645$ ($M+Na^+$)

EXEMPLE 10 : Préparation du 1,3-di(tert-butyloxycarbonylamino)propan-2-ol

20 Le 1,3-diaminopropan-2-ol (3 g ; 0.033 mol) est dissous dans du méthanol (300 ml) avant d'ajouter la triéthylamine (33 ml et goutte à goutte) et le dicarbonate de di-tert-butyle [(BOC)₂O] (21.793 g ; 0.100 mol). Le milieu réactionnel est chauffé à 40-50°C pendant 20 min puis laissé sous agitation à température ambiante pendant une heure. Après évaporation du solvant, l'huile incolore résiduelle est
25 purifiée par chromatographie sur gel de silice (éluant CH₂Cl₂-MeOH 95-5). Le produit est obtenu sous forme d'huile incolore qui cristallise lentement.

Rendement : quantitatif

Rf (CH₂Cl₂-MeOH 95-5) : 0.70

IR: ν_{NH} 3368 cm⁻¹; $\nu_{COcarbamate}$ 1690 cm⁻¹

30 PF : 98-100°C

RMN (^1H , CDCl_3) : 1.45 (massif, 18H, $-\text{CH}_3-$ (BOC)) ; 3.02 (sl, 1H, OH) ; 3.15-3.29 (massif, 4H, $\text{BOCNH}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{NHBOC}$) ; 3.75 (m, 1H, $\text{BOCNH}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{NHBOC}$) ; 5.16 (massif, 2H, $-\text{NHBOC}$).

SM (MALDI-TOF) : $M+1 = 291$ ($M+\text{H}^+$) ; $M+23 = 313$ ($M+\text{Na}^+$) ; $M+39 = 329$ ($M+\text{K}^+$)

EXEMPLE 11 : Préparation du 1,3-di(tert-butyloxycarbonylamino)-2-(tétradécylthioacétyloxy)propane

10 Le 1,3-(di-tert-butoxycarbonylamino)-propan-2-ol (exemple 10) (1 g ; 3.45 mmol), l'acide tétradécylthioacétique (exemple 1) (0.991 g ; 3.45 mmol) et la diméthylaminopyridine (0.042 g ; 0.34 mmol) sont dissous dans le dichlorométhane (40 ml) à 0°C puis la dicyclohexylcarbodiimide (0.709 g ; 3.45 mmol), diluée dans le dichlorométhane, est ajoutée goutte à goutte. Le milieu réactionnel est laissé sous agitation à 0°C pendant 30 min puis est ramené à température ambiante. Après 20 heures de réaction, le précipité de dicyclohexylurée est filtré. Le filtrat est porté à sec. Le résidu huileux est purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant CH_2Cl_2 -cyclohexane 5-5 puis CH_2Cl_2 -acétate d'éthyle 98-2).

20 Rendement : 52%

Rf (CH_2Cl_2 -acétate d'éthyle 95-5) : 0.43

IR: ν_{NH} 3369 cm^{-1} ; $\nu_{\text{COcarbamate}}$ 1690 cm^{-1} ; ν_{COester} 1719 cm^{-1}

PF : huile incolore

25 RMN (^1H , CDCl_3) : 0.89 (t, 3H, CH_3 , $J=6.3\text{ Hz}$) ; 1.26 (massif, 22 H, $-\text{CH}_2-$) ; 1.45 (massif, 18H, $-\text{CH}_3-$ (BOC)) ; 1.56-1.66 (m, 2H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CO}$) ; 2.64 (t, 2H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CO}$, $J=7.5\text{ Hz}$) ; 3.20 (s, 2H, $\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CO}$) ; 3.35 (massif, 4H, $\text{BOCNH}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{NHBOC}$) ; 4.89 (m, 1H, $\text{BOCNH}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{NHBOC}$) ; 5.04 (massif, 2H, $-\text{NHBOC}$).

SM (MALDI-TOF) : $M+23 = 583$ ($M+\text{Na}^+$) ; $M+39 = 599$ ($M+\text{K}^+$)

EXEMPLE 12 : Préparation du dichlorhydrate de 1,3-diamino-2-(tétradécylthioacétyloxy) propane

Le 1,3-(di*tert*-butoxycarbonylamino)-2-tétradécylthioacétyloxypropane (exemple 11) (0.800 g ; 1.43 mmol) est dissous dans de l'éther diéthylique (50 ml) saturé en HCl gaz. Le milieu réactionnel est laissé sous agitation à température ambiante pendant 20 heures. Le précipité formé est ensuite filtré et lavé par de l'éther.

Rendement : 88%

Rf (CH₂Cl₂-MeOH 7-3) : 0.37

10 IR: ν_{NH_2} 3049 et 3099 cm⁻¹; ν_{COester} 1724 cm⁻¹

PF : 224°C (décomposition)

RMN (¹H, CDCl₃) : 0.86 (t, 3H, CH₃, J = 6.3 Hz) ; 1.24 (massif, 22 H, -CH₂-) ; 1.48-1.55 (m, 2H, -CH₂-CH₂-S-CH₂-CO) ; 2.57 (t, 2H, -CH₂-CH₂-S-CH₂-CO, J = 7.2 Hz) ; 3.16 (massif, 4H, BOCNH-CH₂-CH-CH₂-NH) ; 3.56 (s, 2H, CH₂-S-CH₂-CO) ; 5.16 (m, 1H, BOCNH-CH₂-CH-CH₂-NH) ; 8.43 (massif, 6H, -NH₂.HCl).

15 SM (MALDI-TOF) : M+1 = 361 (M+H⁺) ; M+23 = 383 (M+Na⁺) ; M+39 = 399 (M+K⁺)

20 **EXEMPLE 13 : Préparation du 1,3-ditétradécylthioacétylamino-2-(tétradécylthioacétyloxy)propane**

Le dichlorhydrate de 1,3-diamino-2-tétradécylthioacétyloxypropane (exemple 12) (0.400 g ; 0.92 mmol) et l'acide tétradécylthioacétique (exemple 1) (0.532 g ; 1.84 mmol) sont dissous dans le dichlorométhane (50 ml) à 0°C avant d'ajouter la triéthylamine (0.3 ml), la dicyclohexylcarbodiimide (0.571 g ; 2.77 mmol) et l'hydroxybenzotriazole (HOBt) (0.249 g ; 1.84 mmol). Le milieu réactionnel est laissé sous agitation à 0°C pendant 1 heure puis ramené à température ambiante pendant 48 heures. Le précipité de dicyclohexylurée est filtré et rincé par du dichlorométhane. Le filtrat est évaporé sous vide. Le résidu obtenu (1.40 g) est purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant CH₂Cl₂ 10 puis CH₂Cl₂-acétate d'éthyle 9-1).

Rendement : 74%

Rf (CH₂Cl₂-acétate d'éthyle 8-2) : 0.25

IR: ν NH 3279 et 3325⁻¹; ν COester 1731 cm⁻¹; ν COamide 1647 et 1624 cm⁻¹

PF : 87-89°C

RMN (¹H, CDCl₃) : 0.89 (t, 9H, CH₃, J = 6.6 Hz) ; 1.26 (massif, 66H, -CH₂-) ; 1.55-

5 1.60 (massif, 6H, -CH₂-CH₂-S-CH₂-CO) ; 2.55 (t, 4H, -CH₂-CH₂-S-CH₂-CONH-, J=7.2 Hz) ; 2.65 (t, 2H, -CH₂-CH₂-S-CH₂-COO-, J = 7.2 Hz) ; 3.21 (s, 2H, -CH₂-S-CH₂-COO-) ; 3.25 (s, 4H, -CH₂-S-CH₂-CONH-) ; 3.40-3.49 (m, 2H, -CONH-CH_aH_b-CH-CH_aH_b-NHCO-) ; 3.52-3.61 (m, 2H, -CONH-CH_aH_b-CH-CH_aH_b-NHCO-) ; 4.96 (m, 1H, -CONH-CH₂-CH-CH₂-NHCO-) ; 7.42 (massif, 2H, -NHCO-).

10 SM (MALDI-TOF) : M+1 = 901 (M+H⁺) ; M+23 = 923 (M+Na⁺) ; M+39 = 939 (M+K⁺)

15 **EXEMPLE 14 : Préparation du 1,3-dioléoylamino-2-(tétradécylthioacétyloxy)propane**

Le produit est obtenu selon la procédure décrite exemple 13 à partir du dichlorhydrate de 1,3-diamino-2-tétradécylthioacétyloxypropane (exemple 12) et de l'acide oléique.

20 Rendement : 15%

Rf (CH₂Cl₂-acétate d'éthyle 8-2) : 0.38

IR: ν NH 3325⁻¹; ν COester 1729 cm⁻¹; ν COamide 1640 et 1624 cm⁻¹

PF : 57-59°C

RMN (¹H, CDCl₃) : 0.89 (t, 9H, CH₃, J = 6.6 Hz) ; 1.26 (massif, 62H, -CH₂-) ;

25 1.59-1.74 (massif, 6H, -CH₂-CH₂-S-CH₂-CO) ; 1.92-2.03 (massif, 8H, -CH₂-CH=CH-CH₂-) ; 2.22 (t, 4H, -CH₂-CH₂-S-CH₂-CONH-, J = 7.2 Hz) ; 2.65 (t, 2H, -CH₂-CH₂-S-CH₂-COO-, J=7.4 Hz) ; 3.19 (s, 2H, -CH₂-S-CH₂-COO-) ; 3.25-3.34 (m, 2H, -CONH-CH_aH_b-CH-CH_aH_b-NHCO-) ; 3.56-3.65 (m, 2H, -CONH-CH_aH_b-CH-CH_aH_b-NHCO-) ; 4.87 (m, 1H, -CONH-CH₂-CH-CH₂-NHCO-) ; 5.34 (massif, 4H, -CH₂-CH=CH-CH₂-) ; 6.27 (massif, 2H, -NHCO-).

30 SM (MALDI-TOF) : M+1 = 889 (M+H⁺) ; M+23 = 912 (M+Na⁺)

EXEMPLE 15 : Préparation du 1,3-ditétradécylthioacétylamino-2-(tétradécylthioacétylthio)propane

5 *Préparation du 1,3-di(tert-butyloxycarbonylamino)-2-(p-toluènesulfonyloxy)propane (exemple 15a)*

Le 1,3-di(tert-butyloxycarbonylamino)propan-2-ol (exemple 10) (2.89 g ; 10 mmol) et la triéthylamine (2.22 ml ; 16 mmol) sont dissous dans du
10 dichlorométhane anhydre (100 ml). Le mélange réactionnel est refroidi dans un bain de glace avant d'ajouter goutte à goutte le chlorure de tosyle (2.272 g ; 12 mmol) dissous dans du dichlorométhane (30 ml). Après addition, le milieu réactionnel est laissé sous agitation à température ambiante pendant 72 heures.
1 équivalent de chlorure et 1.6 de triéthylamine sont ajoutés au bout de 48
15 heures. De l'eau est ajoutée pour stopper la réaction et le milieu est décanté. Le phase organique est lavée plusieurs fois à l'eau. Les phases aqueuses sont groupées et réextraites par du dichlorométhane . La phase organique est séchée sur MgSO_4 , filtrée et le solvant évaporé. Le résidu obtenu (6.44 g) est purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant CH_2Cl_2 10 puis CH_2Cl_2 -
20 MeOH 99-1) et permet d'obtenir le composé souhaité sous forme de solide blanc.

Rendement : 48%

Rf (CH_2Cl_2 -MeOH 98-2) : 0.70

IR: ν_{NH} 3400 cm^{-1} ; ν_{COester} 1716 cm^{-1} ; $\nu_{\text{COcarbamate}}$ 1689 cm^{-1}

25 PF : 104-111°C

RMN (^1H , CDCl_3) : 1.42 (s, 18H, CH_3 (BOC)) ; 2.46 (s, 3H, CH_3) ; 3.22 et 3.41 (massif, 4H, $\text{BOCNH-CH}_2\text{-CH-CH}_2\text{-NHBOC}$) ; 4.56 (m, 1H, $\text{BOCNH-CH}_2\text{-CH-CH}_2\text{-NHBOC}$) ; 5.04-5.11 (massif, 2H, -NHBOC) ; 7.36 (d, 2H, aromatiques, $J = 8.5$ Hz) ; 7.36 (d, 2H, aromatiques, $J = 8.5$ Hz).

30 SM (MALDI-TOF) : $M+23 = 467$ ($M+\text{Na}^+$) ; $M+39 = 483$ ($M+\text{K}^+$)

Préparation du 1,3-di(tert-butyloxycarbonylamino)-2-acétylthiopropane (exemple 15b)

- Le 1,3-(di-tert-butoxycarbonylamino)-2-(p-toluènesulfonyloxy)propane (exemple 15a) (0.500 g ; 1.12 mmol) et le thioacétate de potassium (0.161 g ; 1.41 mmol) sont dissous dans l'acétone et le milieu est porté à reflux pendant 48 heures. Un équivalent de thioacétate de potassium est ajouté après 24 heures de reflux. La réaction est ramenée à température ambiante puis le solvant est évaporé. Le résidu est repris par de l'éther diéthylique et filtré sur célite. Le filtrat est évaporé.
- Le produit obtenu (0.48 g) est purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant CH_2Cl_2 -acétate d'éthyle 98-2) et permet d'obtenir le produit souhaité sous forme de solide ocre.
- Rendement : 84%
- Rf (CH_2Cl_2 -MeOH 98-2) : 0.45
- IR: ν_{NH} 3350 cm^{-1} ; ν_{COester} 1719 cm^{-1} ; $\nu_{\text{COcarbamate}}$ 1691 cm^{-1}
- PF : 93-96°C
- RMN (^1H , CDCl_3) : 1.45 (s, 18H, CH_3 (BOC)) ; 2.34 (s, 3H, CH_3) ; 3.23-3.32 (m, 2H, $\text{BOCNH-CH}_a\text{H}_b\text{-CH-CH}_a\text{H}_b\text{-NHBOC}$) ; 3.38-3.43 (m, 2H, $\text{BOCNH-CH}_a\text{H}_b\text{-CH-CH}_a\text{H}_b\text{-NHBOC}$) ; 3.58-3.66 (m, 1H, $\text{BOCNH-CH}_2\text{-CH-CH}_2\text{-NHBOC}$) ; 5.22 (massif, 2H, -NHBOC).
- SM (MALDI-TOF) : $\text{M}+23 = 371$ ($\text{M}+\text{Na}^+$).

Préparation du 1,3-di(tert-butyloxycarbonylamino)-2-mercaptopropane (exemple 15c)

- A une solution de KOH 20% dans le méthanol (2.14 ml ; 12.4 mmol), désoxygénée par un courant d'azote, est ajouté le 1,3-di(tert-butoxycarbonylamino)-2-(acétylthio)propane (exemple 15b) (0.380 g ; 1.2 mmol) dilué dans du méthanol (10 ml). Le mélange réactionnel est maintenu sous azote et sous agitation à température ambiante pendant 20 heures. Le milieu est alors acidifié (pH6) par de l'acide acétique puis les solvants sont évaporés sous vide. Le résidu est repris par de l'eau et extrait par du chloroforme. Les phases

~~organiques sont groupées, séchées sur MgSO_4 puis filtrées et évaporées pour~~
donner le produit souhaité sous forme de solide blanc qui est rapidement remis
en réaction.

Rendement : 90%

5 Rf (CH_2Cl_2 - MeOH 98-2) : 0.56

IR: ν_{NH} 3370 cm^{-1} ; ν_{CO} carbamate 1680 cm^{-1}

RMN (^1H , CDCl_3) : 1.46 (s, 18H, CH_3 (BOC)) ; 2.98-3.12 (massif, 3H, $\text{BOCNH-CH}_a\text{H}_b\text{-CH-CH}_a\text{H}_b\text{-NHBOC}$ et $\text{BOCNH-CH}_2\text{-CH-CH}_2\text{-NHBOC}$) ; 3.46-3.50 (m, 2H, $\text{BOCNH-CH}_a\text{H}_b\text{-CH-CH}_a\text{H}_b\text{-NHBOC}$) ; 5.27 (massif, 2H, -NHBOC).

10

Préparation du 1,3-di(tert-butyloxycarbonylamino)-2-(tétradécylthioacétylthio)propane (exemple 15d)

15 Le 1,3-[di(tert-butoxycarbonylamino)]-2-mercaptopropane (exemple 15c) (0.295 g ; 0.963 mmol) est dissous dans le dichlorométhane (40 ml) avant d'ajouter la dicyclohexylcarbodiimide (0.199 g ; 0.963 mmol), la diméthylaminopyridine (0.118 g ; 0.963 mmol) et l'acide tétradécylthioacétique (exemple 1) (0.278 g ; 0.963 mmol). Le mélange réactionnel est laissé sous agitation à température ambiante et l'évolution de la réaction est suivie par CCM. Après 20 heures de
20 réaction, le précipité de dicyclohexylurée est filtré, rincé au dichlorométhane et le filtrat est évaporé. Le résidu obtenu (0.73 g) est purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant CH_2Cl_2 10) et permet d'obtenir le composé souhaité sous forme de poudre blanche.

Rendement : 72%

25 Rf (CH_2Cl_2 - acétate d'éthyle 95-5) : 0.29

IR: ν_{NH} 3328 cm^{-1} ; ν_{CO} thioester 1717 cm^{-1} ; ν_{CO} carbamate 1687 cm^{-1}

PF : 47-51°C

30 RMN (^1H , CDCl_3) : 0.88 (t, 9H, CH_3 , $J = 6.1$ Hz) ; 1.26 (massif, 22H, $-\text{CH}_2-$) ; 1.44 (s, 18H, CH_3 (BOC)) ; 1.53-1.65 (m, 2H, $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S-CH}_2\text{-CO}$) ; 2.59 (t, 2H, $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S-CH}_2\text{-COS-}$, $J = 7.8$ Hz) ; 3.21-3.30 (m, 2H, $\text{BOCNH-CH}_a\text{H}_b\text{-CH-CH}_a\text{H}_b\text{-NHBOC}$) ; 3.40 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-S-CH}_2\text{-COS-}$) ; 3.42-3.49 (m, 2H, BOCNH-

$\text{CH}_a\text{H}_b\text{-CH-CH}_a\text{H}_b\text{-NHBOC}$) ; 3.62-3.65 (m, 1H, $\text{BOCNH-CH}_2\text{-CH-CH}_2\text{-NHBOC}$) ; 5.24 (massif, 2H, -NHBOC).

SM (MALDI-TOF) : $M+23 = 599$ ($M+\text{Na}^+$) ; $M+39 = 615$ ($M+\text{K}^+$)

5

Préparation du dichlorhydrate de 1,3-diamino-2-(tétradécylthioacétylthio)propane (exemple 15e)

Le 1,3-[di(*tert*-butoxycarbonylamino)]-2-tétradécylthioacétylthiopropane (exemple 15d) (0.300 g ; 0.52 mmol) est dissous dans l'éther saturé en HCl gaz (55 ml). Le mélange est laissé sous agitation à température ambiante. Après 96 heures de réaction, le précipité formé est filtré, rincé plusieurs fois à l'éther diéthylique et séché pour donner le composé souhaité sous forme de poudre blanche.

Rendement : 59%

Rf (CH_2Cl_2 -MeOH 9-1) : 0.11

15 IR: $\nu_{\text{NH.HCl}}$ 2700-3250 cm^{-1} ; $\nu_{\text{CO thioester}}$ 1701 cm^{-1}

PF : 181°C (décomposition)

RMN (^1H , CDCl_3) : 0.86 (t, 9H, CH_3 , $J = 6$ Hz) ; 1.24 (massif, 22H, $-\text{CH}_2-$) ; 1.49-1.54 (m, 2H, $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S-CH}_2\text{-CO}$) ; 2.59 (m, 2H, $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S-CH}_2\text{-COS-}$) ; 2.80-2.84 (m, 1H, $\text{BOCNH-CH}_a\text{H}_b\text{-CH-CH}_a\text{H}_b\text{-NHBOC}$) ; 3.03-3.09 (m, 1H, $\text{BOCNH-CH}_a\text{H}_b\text{-CH-CH}_a\text{H}_b\text{-NHBOC}$) ; 3.14 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-S-CH}_2\text{-COS-}$) ; 3.27-3.38 (m, 2H, $\text{BOCNH-CH}_a\text{H}_b\text{-CH-CH}_a\text{H}_b\text{-NHBOC}$) ; 3.86-3.90 (m, 1H, $\text{BOCNH-CH}_2\text{-CH-CH}_2\text{-NHBOC}$) ; 8.21 et 8.52 (2m, 2H+4H, NH.HCl).

25

Préparation du 1,3-ditétradécylthioacétylamino-2-(tétradécylthioacétylthio)propane (exemple 15)

Le dichlorhydrate de 1,3-diamino-2-tétradécylthioacétylthiopropane (100 mg ; 0.225 mmol) et l'acide tétradécylthioacétique (exemple 1) (130 mg ; 0.450 mmol) sont dissous dans le dichlorométhane (30 ml) à 0°C avant d'ajouter la triéthylamine (68 μl), la dicyclohexylcarbodiimide (139 mg ; 0.675 mmol) et hydroxybenzotriazole (61 mg ; 0.450 mmol). Le milieu réactionnel est laissé sous

agitation à 0°C pendant 1 heure puis ramené à température ambiante pendant 48 heures. Le précipité de dicyclohexylurée est filtré et rincé par du dichlorométhane et le filtrat est évaporé. Le résidu obtenu (430 mg) est purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant CH₂Cl₂ -acétate d'éthyle 95-5) et permet d'obtenir le composé souhaité sous forme de poudre blanche.

Rendement : 82%

R_f (CH₂Cl₂ -MeOH 98-2) : 0.54

IR: νCO thioester 1660 cm⁻¹; νCO amide 1651 cm⁻¹

PF : 83-85°C

- 10 RMN (¹H, CDCl₃) : 0.89 (t, 9H, CH₃, J = 6.6 Hz) ; 1.26 (massif, 66H, -CH₂-) ; 1.56-1.62 (massif, 62H, -CH₂-CH₂-S-CH₂-CO) ; 2.56 (t, 4H, -CH₂-CH₂-S-CH₂-CONH-, J = 7.5 Hz) ; 2.61 (t, 2H, -CH₂-CH₂-S-CH₂-COS-, J = 7 Hz) ; 3.26 (s, 4H, CH₂-S-CH₂-CONH-) ; 3.42 (s, 2H, CH₂-S-CH₂-COS-) ; 3.44-3.49 (m, 2H, -CONH-CH_aH_b-CH-CH_aH_b-NH-CO) ; 3.55-3.61 (m, 2H, -CONH-CH_aH_b-CH-CH_aH_b-NHCO-) ; 3.70-3.71 (m, 1H, BOCNH-CH₂-CH-CH₂-NHBOC) ; 7.58-7.62 (m, 2H, NHCO).

SM (MALDI-TOF) : M+1 = 917 (M+H⁺) ; M+23 = 939 (M+Na⁺)

20

EXEMPLE 16 : Préparation du 1-tétradécylthioacétylamino-2,3-di(tétradécylthioacétylthio)propane

Préparation du 1-(tert-butyloxycarbonylamino)-propane-2,3-diol (exemple 16a)

- 25 Le 1,3-diaminopropan-2-ol (5 g ; 55 mmol) est dissous dans le méthanol (200 ml) avant d'ajouter goutte à goutte la triéthylamine (0.5 ml par mmol d'amine) et l'anhydride de boc (17.97 g ; 82 mmol). Le milieu réactionnel est chauffé à 40-50°C pendant 20 min puis laissé sous agitation à température ambiante pendant une heure. Après évaporation du solvant, l'huile incolore résiduelle est purifiée
- 30 par chromatographie sur gel de silice avec l'éluant CH₂Cl₂ -MeOH 95-5 et permet d'obtenir le composé souhaité sous forme d'huile incolore qui cristallise lentement.

Rendement : 99%

Rf (CH₂Cl₂-MeOH 9-1) : 0.39

IR: ν NH 3350 cm⁻¹; ν CO_{ester} 1746 cm⁻¹; ν CO_{amide} 1682 cm⁻¹

PF < 15°C

RMN (¹H, CDCl₃) : 1.44 (s, 9H, CH₃ (BOC)); 3.16-3.31 (m, 2H, BOCNH-CH₂-CH-CH₂-OH) ; 3.44 (massif, 2H, OH) ; 3.16-3.31 (m, 2H, BOCNH-CH₂-CH-CH₂-OH) ; 3.71-3.78 (m, 1H, BOCNH-CH₂-CH-CH₂-OH) ; 5.24 (m, 1H, -NHBOC).

SM (MALDI-TOF) : M+23 = 214 (M+Na⁺)

10

Préparation du 1-(tert-butyloxycarbonylamino)-2,3-di(p-toluènesulfonyloxy)propane (exemple 16b)

Ce composé est obtenu selon la procédure précédemment décrite (exemple 15a) à partir du 1-(tert-butyloxycarbonylamino)-propane-2,3-diol (composé 16a) et du chlorure de p-toluènesulfonyl. Le produit est obtenu sous forme d'une poudre blanche.

Rendement : 45%

Rf (CH₂Cl₂-MeOH 98-2) : 0.49

IR : ν NH 3430 cm⁻¹; ν CO ester et carbamate 1709 cm⁻¹

PF : 112-116°C

RMN (¹H, CDCl₃) : 1.40 (s, 9H, CH₃ (BOC)); 2.46 (s, 6H, CH₃) ; 3.26-3.45 (m, 2H, BOCNH-CH₂-CH-CH₂-OTs) ; 4.04-4.14 (m, 2H, BOCNH-CH₂-CH-CH₂-OTs) ; 4.68 (m, 1H, BOCNH-CH₂-CH-CH₂-OTs) ; 4.71 (s, 1H, -NHBOC) ; 7.34 (d, 4H, aromatiques, J = 8.5 Hz) ; 7.69 (d, 2H, aromatiques, J = 8.1 Hz) ; 7.76 (d, 2H, aromatiques, J = 8.1 Hz).

SM (MALDI-TOF) : M+23 = 522 (M+Na⁺) ; M+39 = 538 (M+K⁺)

Préparation du 1-(tert-butyloxycarbonylamino)-2,3-di(acétylthio)propane (exemple 16c)

Ce composé est obtenu selon la procédure précédemment décrite (exemple 15b) à partir du 1-(tert-butyloxycarbonylamino)-2,3-di(p-toluènesulfonyloxy)propane (composé 16b) et du thioacétate de potassium. Le produit est obtenu sous forme d'un solide blanc.

5 Rendement : 59%

Rf (CH₂Cl₂ -acétate d'éthyle 95-5) : 0.55

IR : ν_{NH} 3430 cm⁻¹ ; ν_{CO} thioester 1718 cm⁻¹ ; ν_{CO} carbamate 1690 cm⁻¹

PF : 62-63°C

10 RMN (¹H, CDCl₃) : 1.45 (s, 9H, CH₃ (BOC)) ; 2.35 (s, 3H, CH₃) ; 2.37 (s, 3H, CH₃) ; 3.12-3.38 (massif, 4H, BOCNH-CH₂-CH-CH₂-SCO-) ; 3.69-3.78 (m, 1H, BOCNH-CH₂-CH-CH₂-SCO-) ; 5.02 (s, 1H, -NHBOC).

SM (MALDI-TOF) : M+23 = 330 (M+Na⁺)

15 *Préparation du 1-(tert-butyloxycarbonylamino)-2,3-dimercaptopropane (exemple 16d)*

20 Ce composé est obtenu selon la procédure précédemment décrite (exemple 15c) par saponification du 1-(tert-butyloxycarbonylamino)-2,3-di(acétylthio)propane (composé 16c). Le produit est obtenu sous forme d'un solide blanc qui est rapidement remis en réaction.

Rendement : 95%

Rf (CH₂Cl₂ -acétate d'éthyle 95-5) : 0.45

IR : ν_{NH} 3368 cm⁻¹ ; ν_{CO} carbamate 1688 cm⁻¹

25 PF : 62-63°C

RMN (¹H, CDCl₃) : 1.46 (s, 9H, CH₃ (BOC)) ; 3.04-3.11 (m, 1H, BOCNH-CH₂-CHSH-CH₂-SH) ; 3.26-3.35 (m, 2H, BOCNH-CH₂-CHSH-CH₂-SH) ; 3.43-3.52 (m, 2H, BOCNH-CH₂-CH-CH₂-SH) ; 4.91 (m, 2H, SH) ; 5.08 (s, 1H, -NHBOC).

Préparation du 1-(tert-butyloxycarbonylamino)-2,3-di(tétradécylthioacétylthio)propane (exemple 16e)

5 Ce composé est obtenu selon la procédure précédemment décrite (exemple 15d) à partir du 1-(tert-butyloxycarbonylamino)-2,3-dimercaptopropane (composé 16d) et de l'acide tétradécylthioacétique (exemple 1). Le produit est obtenu sous forme d'un solide blanc.

Rendement : 50%

Rf (CH₂Cl₂) : 0.38

10 IR : ν_{NH} 3421 cm⁻¹; ν_{CO} thioester 1721 cm⁻¹; ν_{CO} carbamate 1683 cm⁻¹

PF : 60-62°C

15 RMN (¹H, CDCl₃) : 0.87 (t, 6H, CH₃, J = 6.3 Hz); 1.26 (massif, 44H, -CH₂-); 1.45 (s, 9H, CH₃ (BOC)); 1.57-1.62 (m, 4H, -CH₂-CH₂-S-CH₂-COS-); 2.60 (t, 4H, -CH₂-CH₂-S-CH₂-COS-, J = 6.9 Hz); 3.17-3.29 (m, 2H, BOCNH-CH_aH_b-CH-CH_aH_b-NHBOC); 3.29-3.38 (m, 2H, BOCNH-CH_aH_b-CH-CH_aH_b-NHBOC); 3.41 (s, 2H, CH₂-S-CH₂-COS-); 3.43 (s, 2H, CH₂-S-CH₂-COS-); 3.76-3.80 (m, 1H, BOCNH-CH₂-CH-CH₂-NHBOC); 5.03 (s, 1H, -NHBOC).
SM (MALDI-TOF) : M+23 = 786 (M+Na⁺)

20

Préparation du chlorhydrate de 1-amino-2,3-di(tétradécylthioacétylthio)propane (exemple 16f)

25 Ce composé est obtenu selon la procédure précédemment décrite (exemple 15e) à partir du 1-(tert-butyloxycarbonylamino)-2,3-di(tétradécylthioacétylthio)propane (composé 16e). Le produit est obtenu sous forme d'un solide blanc.

Rendement : 43%

Rf (CH₂Cl₂) : 0.19

IR : $\nu_{\text{NH.HCl}}$ 2700-3250 cm⁻¹; ν_{CO} thioester 1701 et 1676 cm⁻¹

30 PF : 117-128°C

RMN (¹H, CDCl₃) : 0.86 (t, 6H, CH₃, J = 6 Hz); 1.24 (massif, 44H, -CH₂-); 1.51 (m, 4H, -CH₂-CH₂-S-CH₂-COS-); 2.61 (m, 4H, -CH₂-CH₂-S-CH₂-COS-); 2.93-

3.04 (m, 2H, BOCNH-CH_aH_b-CH-CH_aH_b-NHBOC) ; 3.11-3.20 (m, 2H, BOCNH-CH_aH_b-CH-CH_aH_b-NHBOC) ; 3.59-3.63 (massif, 4H, CH₂-S-CH₂-COS-) ; 3.72-3.84 (m, 1H, BOCNH-CH₂-CH-CH₂-NHBOC) ; 8.12 (m, 3H, NH₂.HCl).

5

Préparation du 1-tétradécylthioacétylamino-2,3-di(tétradécylthioacétylthio)propane (exemple 16)

Le chlorhydrate de 1-amino-2,3-ditétradécylthioacétylthiopropane (100 mg ; 0.140 mmol) et l'acide tétradécylthioacétique (62 mg ; 0.210 mmol) sont dissous dans le dichlorométhane (40 ml) à 0°C avant d'ajouter la triéthylamine (43ml), la dicyclohexylcarbodiimide (59 mg ; 0.28 mmol) et l'HOBt (29 mg ; 0.210 mmol). Le milieu réactionnel est laissé sous agitation à 0°C pendant 1 heure puis ramené à température ambiante pendant 24 heures. Le milieu est ensuite chauffé à reflux léger pendant 48 heures puis porté à sec. Le résidu obtenu (310 mg) est purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant CH₂Cl₂ - cyclohexane 8-2) et permet d'obtenir le composé souhaité sous forme de poudre blanche.

Rendement : 96%

20 R_f (CH₂Cl₂) : 0.20

IR : νNH amide 3306 cm⁻¹ ; νCO thioester 1674 cm⁻¹ ; νCO amide 1648 cm⁻¹

PF : 78-80°C

RMN (¹H, CDCl₃) : 0.89 (t, 9H, CH₃, J = 6.6 Hz) ; 1.26 (massif, 66H, -CH₂) ; 1.58-1.62 (massif, 6H, -CH₂-CH₂-S-CH₂-COS-) ; 2.56 (t, 4H, -CH₂-CH₂-S-CH₂-COS-, J = 7.5 Hz) ; 2.61 (t, 2H, -CH₂-CH₂-S-CH₂-CONH-, J = 7 Hz) ; 3.26 (s, 4H, CH₂-S-CH₂-COS-) ; 3.42 (s, 2H, CH₂-S-CH₂-CONH-) ; 3.44-3.49 (m, 2H, BOCNH-CH_aH_b-CH-CH_aH_b-NHBOC) ; 3.55-3.61 (m, 2H, BOCNH-CH_aH_b-CH-CH_aH_b-NHBOC) ; 3.70-3.71 (m, 1H, BOCNH-CH₂-CH-CH₂-NHBOC) ; 7.58-7.62 (m, 1H, NHCO).

30 SM (MALDI-TOF) : M+1 = 934 (M+H⁺) ; M+23 = 956 (M+Na⁺) ; M+39 = 972 (M+K⁺)

EXEMPLE 17 : Méthode de préparation des composés de formule (I) selon l'invention.

5

Pour conduire les expériences *in vitro* décrites dans les exemples suivants, les composés selon l'invention ont été préparés sous forme d'une émulsion telle que décrite ci-après.

10

L'émulsion comprenant un composé selon l'invention et de la phosphatidylcholine (PC) est préparée selon le protocole de Spooner et al (Spooner, Clark et al. 1988). Le composé selon l'invention est mélangé à la PC selon un rapport 4:1 (w/w) dans du chloroforme, la mixture est séchée sous azote, puis évaporée toute la nuit sous vide, la poudre qui en résulte est reprise par 0,16 M de KCl contenant 0,01 M d'EDTA puis les particules lipidiques sont dispersées par ultra-sons pendant 30 minutes à 37°C. Les liposomes formés sont ensuite séparés par ultracentrifugation (ultracentrifugeuse XL 80, Beckman Coulter, Villepinte, France) à 25000 tr/m pendant 45 minutes pour récupérer les liposomes dont la taille est supérieure à 100 nm et se rapproche de celle des chylomicrons. Des liposomes constitués uniquement de PC sont préparés en parallèle pour servir de témoin négatif.

15

20

La composition des liposomes en composé selon l'invention est estimée en utilisant le kit de dosage enzymocolorimétrique des triglycérides. Le dosage est effectué contre une gamme standard, préparée grâce au calibrateur des lipides CFAS Réf. N° 759350 (Boehringer Mannheim GmbH, Allemagne). La gamme standard a été construite de 16 à 500 µg/ml. 100 µl de chaque dilution d'échantillon ou de gamme étalon sont déposés par puits d'une plaque de titration (96 puits). Ensuite 200 µl de réactifs triglycérides Réf. 701912 (Boehringer Mannheim GmbH, Allemagne) sont rajoutés dans chaque puits, et l'ensemble de la plaque est incubée pendant 30 min. à 37°C. La lecture des Densités Optiques (DO) est effectuée à 492 nm sur le spectrophotomètre. Les concentrations en triglycérides de chaque échantillon sont calculées après construction de la courbe étalon selon une fonction linéaire $y=ax+b$, où y représente les DO et x les concentrations en triglycérides.

25

30

Les liposomes contenant les composés selon l'invention, ainsi préparés sont utilisés dans les expériences *in vitro* décrites dans les exemples 19, 20 et 21.

5

EXEMPLE 18 : Evaluation des propriétés antioxydantes des composés selon l'invention

A-/Protection de l'oxydation des LDL par le cuivre :

10

L'oxydation des LDL est une modification importante et joue un rôle prépondérant dans la mise en place et le développement de l'athérosclérose (Jurgens, Hoff et al. 1987). Le protocole suivant permet la mise en évidence des propriétés antioxydantes des composés. Sauf mention différente, les réactifs

15

proviennent de chez Sigma (St Quentin, France).
Les LDL sont préparés suivant la méthode décrite par Lebeau et al. (Lebeau, Furman et al. 2000).

20

Les solutions de composés à tester sont préparées à 10^{-2} M dans de l'éthanol et diluées dans du PBS pour avoir des concentrations finales allant de 0,1 à 100 μ M pour une concentration totale d'éthanol de 1% (v/v).

25

Avant l'oxydation, l'EDTA est retiré de la préparation de LDL par dialyse. L'oxydation a ensuite lieu à 30°C en ajoutant 100 μ l d'une solution à 16,6 μ M de CuSO_4 à 800 μ L de LDL (125 μ g de protéines/ml) et 100 μ L d'une solution du composé à tester. La formation de diènes, l'espèce à observer, se mesure par densité optique à 234 nm dans les échantillons traités avec les composés en présence ou en absence de cuivre. La mesure de la densité optique à 234 nm est réalisée toutes les 10 minutes pendant 8 heures à l'aide d'un spectrophotomètre thermostaté (Kontron Uvikon 930). Les analyses sont

30

réalisées en triplicata. Nous considérons que les composés ont une activité antioxydante lorsqu'ils induisent un décalage de phase par rapport à l'échantillon témoin. Les inventeurs mettent en évidence que les composés selon l'invention

retardent l'oxydation des LDL (induite par le cuivre), ceci indiquant que les composés selon l'invention possèdent un caractère antioxydant intrinsèque. Un exemple de résultats obtenus avec des composés selon l'invention est présenté dans la figure 2.

5

La figure 2 montre que les composés selon l'invention Ex 2, 4, 5, 6 et 13, possèdent des propriétés antioxydantes intrinsèques.

La figure 2a montre que les composés selon l'invention induisent un décalage de la lag phase de plus de 13% pour le composé Ex 2 jusqu'à 34,3% pour le composé Ex 4. Les composés selon l'invention ne semblent pas modifier la vitesse d'oxydation (voir figure 2b) ni la quantité de diènes formés (voir figure 2c).

10 B-/Evaluation de la protection conférée par les composés selon l'invention vis-à-vis de la peroxydation lipidique :

Les composés selon l'invention, testés sont les composés dont la préparation est décrite dans les exemples 2 à 16.

La mesure de l'oxydation des LDL est réalisée par la méthode des TBARS.

20 Selon le même principe que celui décrit précédemment, les LDL sont oxydés avec du CuSO_4 et la peroxydation lipidique est déterminée de la manière suivante :

Les TBARS sont mesurés à l'aide d'une méthode spectrophotométrique, l'hydroperoxydation lipidique est mesurée en utilisant l'oxydation peroxyde-lipide dépendante de l'iodide en iode. Les résultats sont exprimés en nmol de malondialdéhyde (MDA) ou en nmol d'hydroperoxyde/mg de protéines.

25 Les résultats obtenus précédemment, en mesurant l'inhibition de la formation de diènes conjugués, sont confirmés par les expériences de mesure de peroxydation lipidique des LDL. Les composés selon l'invention, protègent donc également de manière efficace les LDL contre la peroxydation lipidique induite par le cuivre (agent oxydant).

30

Exemple 19 : Mesure des propriétés antioxydantes des composés selon l'invention sur des cultures de cellules

A-/Protocole de culture :

5 Les lignées cellulaires utilisées pour ce type d'expériences sont de type neuronales, neuroblastomes (humains) et cellules PC12 (rat). Les cellules PC12 ont été préparées à partir d'un pheochromocytome de rat et sont caractérisées par Greene et Tischler (Greene and Tischler 1976). Ces cellules sont couramment utilisées pour des études de différenciation neuronale, transduction
10 du signal et mort neuronale. Les cellules PC12 sont cultivées comme précédemment décrit (Farinelli, Park et al. 1996), dans du milieu complet RPMI (Invitrogen) complémenté avec 10% de sérum de cheval et 5% de sérum de veau fœtal.

Des cultures (primaires) de cellules endothéliales et muscles lisses sont
15 également utilisées. Les cellules sont commandées chez Promocell (Promocell GmbH, Heidelberg) et sont cultivées selon les indications du fournisseur.

Les cellules sont traitées avec différentes doses de composés de 5 à 100 μM 5 à 300 μM pendant 24 heures. Les cellules sont alors récupérées et l'augmentation de l'expression des gènes d'intérêt est évaluée par PCR quantitative.

B-/Mesure des ARMm :

Les ARNm sont extraits des cellules en culture traitées ou non avec les composés selon l'invention. L'extraction est réalisée à l'aide des réactifs du kit Absolutely RNA RT-PCR miniprep Kit (Stratagene, France) selon les indications
25 du fournisseur. Les ARNm sont ensuite dosés par spectrométrie et quantifiés par RT-PCR quantitative à l'aide du kit Light Cycler Fast start DNA Master Sybr Green I kit (Roche) sur un appareil Light Cycler System (Roche, France). Des paires d'amorces spécifiques des gènes de la Super Oxyde Dismutase (SOD), de la Catalase et de la Glutathion Peroxydase (GPx), enzymes anti-oxydantes,
30 sont utilisées comme sondes. Des paires d'amorces spécifiques des gènes β -actine et cyclophiline sont utilisées comme sondes témoin.

L'augmentation de l'expression des ARNm, mesurée par RT-PCR quantitative, des gènes des enzymes antioxydantes est mise en évidence dans les différents types cellulaires utilisés, lorsque les cellules sont traitées avec les composés selon l'invention.

5

C-/Contrôle du stress oxydatif :

Mesure des espèces oxydantes dans les cellules en culture :

Les propriétés antioxydantes des composés sont également évaluées à l'aide d'un indicateur fluorescent dont l'oxydation est suivie par l'apparition d'un signal fluorescent. La diminution d'intensité du signal fluorescent émis est mesurée dans les cellules traitées avec les composés de la manière suivante : les cellules PC12 cultivées comme précédemment décrit (plaque noire 96 puits fonds transparent, Falcon) sont incubées avec des doses croissantes de H_2O_2 (0,25 mM – 1 mM) dans du milieu sans sérum pendant 2 et 24 heures. Après l'incubation le milieu est enlevé et les cellules sont incubées avec une solution de dichlorodihydrofluorescéine diacetate (DCFDA, Molecular Probes, Eugene, USA) 10 μ M dans du PBS pendant 30 min à 37°C et dans une atmosphère contenant 5% de CO_2 . Les cellules sont ensuite rincées avec du PBS. La détection de la fluorescence émise par l'indicateur de l'oxydation est mesurée à l'aide d'un fluorimètre (Tecan Ultra 384) à une longueur d'onde d'excitation de 495 nm et une longueur d'onde d'émission de 535 nm. Les résultats sont exprimés en pourcentage de protection par rapport au témoin oxydé.

L'intensité de fluorescence est plus faible dans les cellules incubées avec les composés selon l'invention que dans les cellules non traitées. Ces résultats indiquent que les composés selon l'invention favorisent l'inhibition de la production d'espèces oxydantes dans des cellules soumises à un stress oxydatif. Les propriétés antioxydantes décrites précédemment sont également efficaces pour induire une protection antiradicalaire dans des cellules en culture.

30 D-/Mesure de la peroxydation lipidique :

Les différentes lignées cellulaires (modèles cellulaires cités précédemment) ainsi que les cellules en culture primaire sont traitées comme précédemment. Le surnageant des cellules est récupéré après le traitement et les cellules sont

~~lysées et récupérées pour la détermination de la concentration protéique. La~~

détection de la peroxydation lipidique est déterminée de la manière suivante : la peroxydation lipidique est mesurée à l'aide d'acide thiobarbiturique (TBA) qui réagit avec la lipoperoxydation des aldéhydes tel que le malondialdéhyde (MDA).

- 5 Après les traitements, le surnageant des cellules est collecté (900 µl) et 90 µl d'hydroxytoluène butylé y sont ajoutés (Morliere, Moysan et al. 1991). 1 ml d'une solution de TBA à 0,375% dans 0,25M HCl contenant 15% d'acide trichloroacétique est également ajouté aux milieux réactionnels. Le mélange est chauffé à 80°C pendant 15 min, refroidit sur glace et la phase organique est
- 10 extraite avec du butanol. L'analyse de la phase organique se fait par spectrofluorométrie ($\lambda_{exc}=515$ nm et $\lambda_{em}=550$ nm) à l'aide du spectrofluorimètre Shimadzu 1501 (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japon). Les TBARS sont exprimés en équivalents MDA en utilisant comme standard le tétra-éthoxypropane. Les résultats sont normalisés par rapport au contenu en
- 15 protéines.

La diminution de la peroxydation lipidique observées dans les cellules traitées avec les composés selon l'invention confirme les résultats obtenus précédemment.

- Les composés selon l'invention présentent avantageusement des propriétés
- 20 antioxydantes intrinsèques qui permettent de ralentir et/ou d'inhiber les effets d'un stress oxydatif. Les inventeurs montrent également que les composés selon l'invention sont capables d'induire l'expression des gènes d'enzymes antioxydantes. Ces caractéristiques particulières des composés selon l'invention permettent aux cellules de lutter plus efficacement contre le stress oxydatif et
- 25 donc d'être protégées vis-à-vis des dommages induits par les radicaux libres.

Exemple 20 : Evaluation de l'activation des PPARs *in vitro* par les composés selon l'invention

Les récepteurs nucléaires membres de la sous-famille des PPARs qui sont activés par deux classes majeures de composés pharmaceutiques, les fibrates et les glitazones, abondamment utilisées en clinique humaine pour le traitement des dyslipidémies et du diabète, jouent un rôle important dans l'homéostasie lipidique et glucidique. Les données expérimentales suivantes montrent que les composés selon l'invention activent PPAR α *in vitro*.

L'activation des PPARs est évaluée *in vitro* dans des lignées de type fibroblastique RK13 ou dans une lignée hépatocytaire HepG2, par la mesure de l'activité transcriptionnelle de chimères constituées du domaine de liaison à l'ADN du facteur de transcription Gal4 de levure et du domaine de liaison du ligand des différents PPARs. L'exemple présenté ci-dessous est donné pour les cellules HepG2.

A-/Protocoles de culture

Les cellules HepG2 proviennent de l'ECACC (Porton Down, UK) et sont cultivées dans du milieu DMEM supplémenté de 10% vol/vol sérum de veau foetal, 100 U/ml pénicilline (Gibco, Paisley, UK) et 2 mM L-Glutamine (Gibco, Paisley, UK). Le milieu de culture est changé tous les deux jours. Les cellules sont conservées à 37°C dans une atmosphère humide contenant 5% de CO₂ et 95% d'air.

B-/Description des plasmides utilisés en transfection

Les plasmides pG5TkpGL3, pRL-CMV, pGal4-hPPAR α , pGal4-hPPAR γ et pGal4-f ont été décrits par (Raspe, Madsen et al. 1999). Les constructions pGal4-mPPAR α et pGal4-hPPAR β ont été obtenues par clonage dans le vecteur pGal4-f de fragments d'ADN amplifiés par PCR correspondants aux domaines DEF des récepteurs nucléaires PPAR α de souris et PPAR β humain respectivement.

30 C-/Transfection

Les cellules HepG2 sontensemencées dans des boîtes de culture de 24 puits à raison de 5x10⁴ cellules/puit et sont transfectées pendant 2 heures avec le

plasmide rapporteur pG5TkpGL3 (50 ng/puit); les vecteurs d'expression pGal4-f

ou pGal4-mPPAR α ou pGal4-hPPAR α ou pGal4-hPPAR γ ou pGal4-hPPAR β (100 ng/puit) et le vecteur de contrôle de l'efficacité de transfection pRL-CMV (1 ng/puit) suivant le protocole décrit précédemment (Raspe, Madsen et al. 1999) et incubées pendant 36 heures avec les composés testés. A l'issue de l'expérience, les cellules sont lysées (Gibco, Paisley, UK) et les activités luciférase sont déterminées à l'aide du kit de dosage Dual-LuciferaseTM Reporter Assay System (Promega, Madison, WI, USA) selon la notice du fournisseur. Le contenu en protéines des extraits cellulaires est ensuite évalué à l'aide du kit de dosage Bio-Rad Protein Assay (Bio-Rad, München, Allemagne) selon la notice du fournisseur.

Les inventeurs mettent en évidence une augmentation de l'activité luciférase dans les cellules traitées avec les composés selon l'invention et transfectées avec le plasmide pGal4-hPPAR α . Cette induction de l'activité luciférase indique que les composés selon l'invention, sont des activateurs de PPAR α . Un exemple de résultats obtenus avec des composés selon l'invention est présenté dans la figure 3.

Figure 3 : les cellules HepG2, transfectées avec les plasmides du système Gal4/PPAR α , sont incubées avec différentes concentrations (5, 15, 50 et 100 μ M) des composés selon l'invention (Ex 2, Ex 4, Ex 5, Ex 6, Ex 13) pendant 24h ainsi qu'avec différentes concentrations de véhicule (PC) notées 1, 2, 3, 4 à titre de contrôles respectivement pour les concentrations 5, 15, 50 et 100 μ M des composés selon l'invention (suivant le rapport 4 :1 w/w décrit dans l'exemple 17 (Méthode de préparation des composés de formule (I) selon l'invention)). Les résultats sont représentés par le facteur d'induction (signal luminescent des cellules traitées divisé par le signal luminescent des cellules non traitées) en fonction des différents traitements. Plus le facteur d'induction est élevé meilleure est la propriété d'agoniste pour PPAR α . Les résultats montrent que le composé selon l'invention Ex 2 favorise l'induction du signal luminescent d'un facteur maximal de 19,8 à 50 μ M, de 19,2 à 100 μ M, de 7,7 à 15 μ M et de 1,5 à 5 μ M. Le composé selon l'invention Ex 5 induit également une augmentation du facteur

d'induction avec un effet dose de 10,5 à 100 μ M, 7 à 50 μ M, 2,5 à 15 μ M et 1,2 à 5 μ M. Le composé selon l'invention Ex 6 induit aussi une augmentation du signal luminescent, révélateur d'une activité sur le récepteur nucléaire PPAR α . Les facteurs d'induction pour le composé Ex 6 sont de 14,5 à 100 μ M, 9,6 à 50 μ M, 2,2 à 15 μ M et 1,1 à 5 μ M. En revanche lorsque les cellules sont incubées avec le véhicule (liposome de PC) aucune induction significative n'est observée.

Ces résultats montrent que les composés selon l'invention testés possèdent, de manière significative, la propriété de ligand vis à vis de PPAR α et permettent aussi son activation au niveau transcriptionnel.

Exemple 21 : évaluation des propriétés anti-inflammatoires des composés selon l'invention

La réponse inflammatoire apparaît dans de nombreux désordres neurologiques, comme, les ischémies cérébrales, de plus l'inflammation est l'un des facteurs importants de la neurodégénérescence. Lors d'accidents cérébraux, une des premières réactions des cellules de la glie est de libérer des cytokines et des radicaux libres. La conséquence de cette libération de cytokines et de radicaux libres est une réponse inflammatoire au niveau cérébral et qui peut mener à la mort des neurones (Rothwell 1997).

Les lignées cellulaires et les cellules primaires sont cultivées comme décrit précédemment.

Le lipopolysaccharide (LPS), endotoxine bactérienne (Escherichia coli 0111 :B4) (Sigma, France) est reconstitué dans de l'eau distillée et conservé à 4°C. Les cellules sont traitées avec une concentration de LPS de 1 μ g/ml pendant 24 heures. Pour éviter toute interférence avec d'autres facteurs, le milieu de culture des cellules est totalement changé.

Le TNF- α est un facteur important de la réponse inflammatoire à un stress (oxydant par exemple). Pour évaluer la sécrétion de TNF- α en réponse à une stimulation par des doses croissantes de LPS, le milieu de culture des cellules

~~stimulées est prélevé et la quantité de TNF- α est évaluée avec un kit ELISA~~

TNF- α (Immunotech, France). Les échantillons sont dilués 50 fois afin d'être en adéquation avec la gamme étalon (Chang, Hudson et al. 2000).

La propriété anti-inflammatoire des composés selon l'invention est caractérisée de la manière suivante : le milieu de culture des cellules est totalement changé et les cellules sont incubées avec les composés à tester pendant 2 heures. Après cette incubation, du LPS est rajouté au milieu de culture à une concentration finale de 1 μ g/ml. Après 24 heures d'incubation, le surnageant de cellules est récupéré et stocké à -80°C lorsqu'il n'est pas traité directement. Les cellules sont lysées et la quantité de protéines est mesurée, à l'aide du kit de dosage Bio-Rad Protein Assay (Bio-Rad, München, Allemagne) selon la notice du fournisseur.

La mesure de la diminution de sécrétion de TNF- α favorisée par le traitement avec les composés testés est exprimée en pg/ml/ μ g de protéine et rapportée en pourcentage par rapport au témoin. Ceci montre que les composés selon l'invention possèdent des propriétés anti-inflammatoires.

Exemple 22 : Evaluation des effets neuro-protecteurs des composés selon l'invention dans un modèle d'ischémie-reperfusion cérébral

A-/Modèle Prophylactique :

1/ Traitement des animaux

1.1 Animaux et administration des composés

Des rats Wistar de 200 à 350 g ont été utilisés pour cette expérience.

Les animaux sont maintenus sous un cycle lumière/obscurité de 12 h à une température de 20 \pm 3°C. Les animaux ont un accès libre à l'eau et à la nourriture. La prise de nourriture et la prise de poids sont enregistrées.

Les animaux sont traités par gavage avec les composés selon l'invention (600 mg/kg/jour) suspendus dans un véhicule (carboxyméthylcellulose 0,5% (CMC) et Tween 0,1%) ou traités avec le véhicule susmentionné, pendant 14 jours avant l'induction de l'ischémie par occlusion de l'artère cérébrale moyenne.

La carboxyméthylcellulose utilisée est un sel de sodium de carboxyméthylcellulose de viscosité moyenne (Ref. C4888, Sigma-aldrich, France). Le Tween utilisé est le Polyoxyéthylènesorbitan Monooleate (Tween 80, Ref. P8074, Sigma-aldrich, France)

5

1.2 Induction d'une ischémie-reperfusion par occlusion intraluminale de l'artère moyenne cérébrale :

10 Les animaux ont été anesthésiés à l'aide d'une injection intra-péritonéale de 300 mg/kg d'hydrate de chloral. Une sonde rectale est mise en place et la température du corps est maintenue à $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. La pression artérielle est mesurée au cours de toute l'expérience.

15 Sous un microscope chirurgical, la carotide droite est mise à jour à l'aide d'une incision cervicale médiale. L'artère ptérygopalatine a été ligaturée à son origine et une artériotomie est réalisée dans l'artère carotide externe afin d'y glisser un mono-filament de nylon. Ce filament est alors doucement avancé dans l'artère carotide commune puis dans l'artère carotide interne afin d'obturer l'origine de l'artère cérébrale moyenne. Après 1 heure, le filament est retiré pour permettre la reperfusion.

20

2/ Mesure du volume de l'infarctus cérébral :

24 heures après la reperfusion, les animaux préalablement traités ou non traités avec les composés selon l'invention sont tués par une overdose de pentobarbital.

25 Les cerveaux sont rapidement congelés et sectionnés. Les sections sont colorées au violet Cresyl. Les zones non colorées des sections cérébrales ont été considérées comme lésées par l'infarctus. Les aires (de l'infarctus et des deux hémisphères) ont été mesurées, les volumes de l'infarctus et des deux hémisphères ont été calculés et le volume de l'infarctus corrigé a été calculé par
30 la formule suivante (Volume de l'infarctus corrigé = Volume de l'infarctus - (volume de l'hémisphère droit - volume de l'hémisphère gauche)) pour compenser l'œdème cérébral.

~~L'analyse des coupes de cerveaux d'animaux traités avec les composés selon~~

l'invention révèle une nette diminution du volume de l'infarctus par rapport aux animaux non traités. Lorsque les composés selon l'invention sont administrés aux animaux avant l'ischémie (effet prophylactique), ils sont capables d'induire

5. une neuroprotection.

3/ Mesure de l'activité des enzymes anti-oxydantes :

Les cerveaux des rats sont congelés, écrasés et réduits en poudre puis re-suspendus dans une solution saline. Les différentes activités enzymatiques sont

10 ensuite mesurées comme décrit par les auteurs suivants : superoxide dismutase (Flohe and Otting 1984) ; glutathion peroxidase (Paglia and Valentine 1967); glutathion reductase (Spooner, Delides et al. 1981) ; glutathion-S-transférase (Habig and Jakoby 1981) ; catalase (Aebi 1984).

Les différentes activités enzymatiques mentionnées ci-dessus sont augmentées

15 dans les préparations de cerveaux des animaux traités avec les composés selon l'invention.

B-/Modèle curatif ou traitement de la phase aiguë :

1/ Induction d'une ischémie-reperfusion par occlusion intraluminale de l'artère

20 *moyenne cérébrale.*

Des animaux tels que décrits précédemment sont utilisés pour cette expérience. Les animaux sont anesthésiés à l'aide d'une injection intra-péritonéale de 300 mg/kg d'hydrate de chloral. Une sonde rectale est mise en place et la température du corps est maintenue à 37 +/- 0,5°C. La pression artérielle est

25 mesurée au cours de toute l'expérience.

Sous un microscope chirurgical, la carotide droite est mise à jour à l'aide d'une incision cervicale médiale. L'artère ptérygopalatine a été ligaturée à son origine et une artériotomie est réalisée dans l'artère carotide externe afin d'y glisser un mono-filament de nylon. Ce filament est ensuite doucement avancé dans l'artère

30 carotide commune puis dans l'artère carotide interne afin d'obturer l'origine de l'artère cérébrale moyenne. Après 1 heure, le filament est retiré pour permettre la reperfusion.

2/ Traitement des animaux :

Les animaux ayant subi une ischémie-reperfusion préalable sont traités par les composés selon l'invention par voie orale (tel que déjà décrit dans un véhicule CMC + Tween) une ou plusieurs fois après la reperfusion (600mg/kg/j ou 2 administrations de 300mg/kg/j).

3/ Mesure du volume de l'infarctus cérébral :

24, 48 ou 72 heures après la reperfusion, les animaux préalablement traités ou non traités avec les composés selon l'invention sont tués par une overdose de pentobarbital.

Les cerveaux sont rapidement congelés et sectionnés. Les sections sont colorées au violet Cresyl. Les zones non colorées des sections cérébrales ont été considérées comme lésées par l'infarctus. Les aires (de l'infarctus et des deux hémisphères) ont été mesurées, les volumes de l'infarctus et des deux hémisphères ont été calculés et le volume de l'infarctus corrigé a été calculé par la formule suivante (Volume de l'infarctus corrigé = Volume de l'infarctus - (volume de l'hémisphère droit - volume de l'hémisphère gauche)) pour compenser l'œdème cérébral.

Dans les cas d'un traitement curatif (traitement de la phase aiguë), les animaux traités avec les composés selon l'invention ont des dommages au niveau cérébral réduits par rapport aux animaux non traités. En effet le volume de l'infarctus est diminué lorsque les composés selon l'invention sont administrés durant 24, 48 ou 72 heures après l'ischémie-reperfusion.

Les composés selon l'invention ont donc une activité neuro-protectrice lors d'un traitement consécutif à une ischémie aiguë.

L'utilisation des composés selon l'invention, dans différents modèles expérimentaux, montre que ces nouveaux composés possèdent une activité antioxydante intrinsèque, capable de retarder et de réduire les effets d'un stress oxydatif. De plus, ils induisent l'expression des gènes des enzymes antioxydantes, ce qui associé à leur caractère antioxydant permet de renforcer les protections anti-radicalaires. Par ailleurs, les composés selon l'invention

~~possèdent un pouvoir anti-inflammatoire et la propriété d'activer le récepteur~~
nucléaire PPAR α .

Enfin, l'utilisation des composés selon l'invention dans un modèle d'ischémie
reperfusion chez l'animal montre l'effet bénéfique sur la neuroprotection aussi

5 bien avec un traitement préventif que curatif.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Adams, E. P., F. P. Doyle, et al. (1960). "Antituberculous sulphur compounds. Part IV. Some dimercaptpropyl esters and related dithiouronium bromides." J Chem Soc: 2674-80.
- Adams, H. P., Jr. (2002). "Emergent use of anticoagulation for treatment of patients with ischemic stroke." Stroke 33(3): 856-61.
- Aebi, H. (1984). "Catalase in vitro." Methods Enzymol 105: 121-6.
- Antoniadou-Vyzas, A., G. B. Foscolos, et al. (1986). "Di-adamantane derivatives of a,o-polymethylenediamines with antimicrobial activity." Eur J Med Chem Chim Ther 21(1): 73-74.
- Bhatia, S. K. and J. Hajdu (1987). "Stereospecific synthesis of 2-thiophosphatidylcholines; a new class of biologically active phospholipid analogues." Tetrahedron Lett 28(33): 3767-3770.
- Bordet, R., D. Deplanque, et al. (2000). "Increase in endogenous brain superoxide dismutase as a potential mechanism of lipopolysaccharide-induced brain ischemic tolerance." J Cereb Blood Flow Metab 20(8): 1190-6.
- Chang, R. C., P. Hudson, et al. (2000). "Influence of neurons on lipopolysaccharide-stimulated production of nitric oxide and tumor necrosis factor-alpha by cultured glia." Brain Res 853(2): 236-44.
- Clark, R. B. (2002). "The role of PPARs in inflammation and immunity." J Leukoc Biol 71(3): 388-400.
- Dirnagl, U., C. Iadecola, et al. (1999). "Pathobiology of ischaemic stroke: an integrated view." Trends Neurosci 22(9): 391-7.
- Farinelli, S. E., D. S. Park, et al. (1996). "Nitric oxide delays the death of trophic factor-deprived PC12 cells and sympathetic neurons by a cGMP-mediated mechanism." J Neurosci 16(7): 2325-34.
- Flohe, L. and F. Otting (1984). "Superoxide dismutase assays." Methods Enzymol 105: 93-104.
- Fruchart, J. C., B. Staels, et al. (2001). "PPARS, metabolic disease and atherosclerosis." Pharmacol Res 44(5): 345-52.

- Gaffney, P. R. J. and C. B. Reese (1997). "Preparation of 2-O-arachidonoyl-1-O-stearoyl-sn-glycerol and other di-O-acyl glycerol derivatives." Tetrahedron Lett **38**(14): 2539-2542.
- 5 Gilgun-Sherki, Y., E. Melamed, et al. (2001). "Oxidative stress induced-neurodegenerative diseases: the need for antioxidants that penetrate the blood brain barrier." Neuropharmacology **40**(8): 959-75.
- Gorelick, P. B. (2002). "Stroke prevention therapy beyond antithrombotics: unifying mechanisms in ischemic stroke pathogenesis and implications for therapy: an invited review." Stroke **33**(3): 862-75.
- 10 Greene, L. A. and A. S. Tischler (1976). "Establishment of a noradrenergic clonal line of rat adrenal pheochromocytoma cells which respond to nerve growth factor." Proc Natl Acad Sci U S A **73**(7): 2424-8.
- Gronowitz, S., B. Herslöf, et al. (1978). "Syntheses and chroptical properties of some derivatives of 1-thioglycerol." Chem Phys Lipids **22**: 307-320.
- 15 Habig, W. H. and W. B. Jakoby (1981). "Assays for differentiation of glutathione S-transferases." Methods Enzymol **77**: 398-405.
- Jurgens, G., H. F. Hoff, et al. (1987). "Modification of human serum low density lipoprotein by oxidation-- characterization and pathophysiological implications." Chem Phys Lipids **45**(2-4): 315-36.
- 20 Kainu, T., A. C. Wikstrom, et al. (1994). "Localization of the peroxisome proliferator-activated receptor in the brain." Neuroreport **5**(18): 2481-5.
- Kitchin, J., R. C. Bethell, et al. (1994). "Synthesis and structure-activity relationships of a series of penicillin-derived HIV proteinase inhibitors: heterocyclic ring systems containing P1' and P2' substituents." J Med Chem **37**(22): 3707-16.
- 25 Kotsovolou, S., A. Chiou, et al. (2001). "Bis-2-oxo amide triacylglycerol analogues: a novel class of potent human gastric lipase inhibitors." J Org Chem **66**(3): 962-7.
- Lebeau, J., C. Furman, et al. (2000). "Antioxidant properties of di-tert-butylhydroxylated flavonoids." Free Radic Biol Med **29**(9): 900-12.
- 30 Lutsep, H. L. and W. M. Clark (2001). "Current status of neuroprotective agents in the treatment of acute ischemic stroke." Curr Neurol Neurosci Rep **1**(1): 13-8.

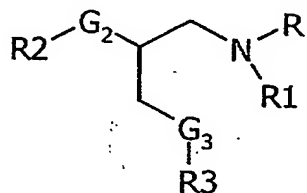
- Marx, M. H., C. Piantadosi, et al. (1988). "Synthesis and evaluation of neoplastic cell growth inhibition of 1-N- alkylamide analogues of glycerol-3-phosphocholine." J Med Chem **31**(4): 858-63.
- 5 Mates, J. M., C. Perez-Gomez, et al. (1999). "Antioxidant enzymes and human diseases." Clin Biochem **32**(8): 595-603.
- Morliere, P., A. Moysan, et al. (1991). "UVA-induced lipid peroxidation in cultured human fibroblasts." Biochim Biophys Acta **1084**(3): 261-8.
- Morris, A. D., G. Atassi, et al. (1997). "The synthesis of novel melphalan derivatives as potential antineoplastic agents." Eur J Med Chem **32**(4):
10 343-50.
- Murata, M., S. Ikoma, et al. (1991). "New synthesis of 2-thio-PAF and related compounds as substrates of PAF acetylhydrolase and phospholipase A2." Chem Pharm Bull **39**(5): 1335-1336.
- Nandagopal, K., T. M. Dawson, et al. (2001). "Critical role for nitric oxide
15 signaling in cardiac and neuronal ischemic preconditioning and tolerance." J Pharmacol Exp Ther **297**(2): 474-8.
- Nazih, A., Y. Cordier, et al. (1999). "Synthesis and stability study of the new pentaammonio lipid pcTG90, a gene transfer agent." Tetrahedron Lett **40**(46): 8089-92.
- 20 Nazih, A., Y. Cordier, et al. (2000). "One-pot transformation of a t-butyl carbamate to a bromoacetamide in the synthesis of the gene transfer agent pcTG201." Synlett **5**: 635-6.
- Paglia, D. E. and W. N. Valentine (1967). "Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase." J Lab
25 Clin Med **70**(1): 158-69.
- Rahman, M. D., D. L. Ziering, et al. (1988). "Effects of sulfur-containing analogues of stearic acid on growth and fatty acid biosynthesis in the protozoan *Crithidia fasciculata*." J Med Chem **31**(8): 1656-9.
- Ramalingan, K., N. Raju, et al. (1995). "Synthesis of nitroimidazole substituted
30 3,3,9,9-tetramethyl-4,8-diaza-undecane-2,10-dione dioximes (propylene amine oximes, PnAOs) : ligands for technetium-99m complexes with potential for imaging hypoxic tissue." Tetrahedron **51**(10): 2875-94.

- Raspe, E., L. Madsen, et al. (1999). "Modulation of rat liver apolipoprotein gene expression and serum lipid levels by tetradecylthioacetic acid (TTA) via PPARalpha activation." J Lipid Res 40(11): 2099-110.
- Rothwell, N. J. (1997). "Cytokines and acute neurodegeneration." Mol Psychiatry 2(2): 120-1.
- Shealy, Y. F., J. L. Frye, et al. (1984). "Synthesis and properties of some 13-cis- and all-trans-retinamides." J Pharm Sci 73(6): 745-51.
- Smith, K. J., E. Dipreta, et al. (2001). "Peroxisomes in dermatology. Part II." J Cutan Med Surg 5(4): 315-22.
- Spooner, P. J., S. B. Clark, et al. (1988). "The ionization and distribution behavior of oleic acid in chylomicrons and chylomicron-like emulsion particles and the influence of serum albumin." J Biol Chem 263(3): 1444-53.
- Spooner, R. J., A. Delides, et al. (1981). "Heat stability and kinetic properties of human serum glutathione reductase activity in various disease states." Biochem Med 26(2): 239-48.
- Urakami, C. and K. Kakeda (1953). "Derivatives of dl-aminopropanediols." Bull Chem Soc Jpn 26(5): 276-278.

REVENDICATIONS

5

1. Composés de formule générale (I) :



(I)

10 dans laquelle :

15

- G2 et G3 représentent indépendamment un atome d'oxygène, un atome de soufre ou un groupe N-R4, G2 et G3 ne pouvant représenter de façon simultanée un groupe N-R4,

20

- R et R4 représentent indépendamment un atome d'hydrogène ou un groupe alkyle linéaire ou ramifié, saturé ou non, éventuellement substitué, comportant de 1 à 5 atomes de carbone,

25

- R1, R2 et R3, identiques ou différents, représentent un atome d'hydrogène, un groupe CO-R5 ou un groupe de formule CO-(CH₂)_{2n+1}-X-R6, l'un au moins des groupes R1, R2 ou R3 étant un groupe de formule CO-(CH₂)_{2n+1}-X-R6,
- R5 est un groupe alkyle linéaire ou ramifié, saturé ou non, éventuellement substitué, comprenant éventuellement un groupement cyclique, dont la chaîne principale comporte de 1 à 25 atomes de carbone,

- X est un atome de soufre, un atome de sélénium, un groupe SO ou un groupe SO₂,

5. • n est un nombre entier compris entre 0 et 11,
- 10 • R6 est un groupe alkyle linéaire ou ramifié, saturé ou non, éventuellement substitué, comprenant éventuellement un groupe cyclique, dont la chaîne principale comporte de 3 à 23 atomes de carbone, de préférence 10 à 23 atomes de carbone et éventuellement un ou plusieurs hétérogroupe(s) choisis parmi un atome d'oxygène, un atome de soufre, un atome de sélénium, un groupe SO et un groupe SO₂,

- 15 à l'exclusion des composés de formule (I) dans laquelle G2R2 et G3R3 représentent simultanément des groupes hydroxyle,

leurs isomères optiques et géométriques, leurs racémates, leurs sels, leurs hydrates et leurs mélanges.

20

2. Composés selon la revendication 1, caractérisés en ce qu' un seul des groupes R1, R2 ou R3 représente un atome d'hydrogène.

25 3. Composés selon la revendication 1 ou 2, caractérisés en ce que, dans le groupe CO-(CH₂)_{2n+1}-X-R6, X représente un atome de soufre ou de sélénium et avantageusement un atome de soufre.

30 4. Composés selon la revendication 1, 2 ou 3, caractérisés en ce que, dans le groupe CO-(CH₂)_{2n+1}-X-R6, n est compris entre 0 et 3, plus spécifiquement compris entre 0 et 2 et est en particulier égal à 0.

5. Composés selon l'une des revendications précédentes, caractérisés en ce que R6 comporte un ou plusieurs hétérogroupe, de préférence 0, 1 ou 2, plus préférentiellement 0 ou 1, choisis parmi un atome d'oxygène, un atome de soufre, un atome de sélénium, un groupe SO et un groupe SO₂.

5

6. Composés selon l'une des revendications précédentes, caractérisés en ce que CO-(CH₂)_{2n+1}-X-R6 est le groupe CO-CH₂-S-C₁₄H₂₉.

7. Composés selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisés en ce qu'au moins un des groupes R1, R2 et R3 représente un groupe CO-(CH₂)_{2n+1}-X-R6 dans lequel X représente un atome de soufre ou de sélénium et de préférence un atome de soufre et/ou R6 est un groupe alkyle saturé et linéaire comprenant de 3 à 23 atomes de carbone, préférentiellement 13 à 20 atomes de carbone, de préférence de 14 à 17, plus préférentiellement de 14 à 16, et encore plus préférentiellement 14 atomes de carbone.

8. Composés selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisés en ce qu'au moins deux des groupes R1, R2 et R3 sont des groupes CO-(CH₂)_{2n+1}-X-R6, identiques ou différents, dans lesquels X représente un atome de soufre ou de sélénium et de préférence un atome de soufre.

9. Composés selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisés en ce que G2 représente un atome d'oxygène ou de soufre, et de préférence un atome d'oxygène.

25

10. Composés selon la revendication précédente, caractérisés en ce que R2 représente un groupe de formule CO-(CH₂)_{2n+1}-X-R6.

11. Composés selon l'une quelconque des revendications précédentes 1-8, caractérisés en ce que :

30

- G3 est un groupe N-R4 dans lequel R4 est un atome d'hydrogène ou un groupe méthyle, et G2 est un atome d'oxygène ; et/ou

~~R2 représente un groupe $\text{CO}-(\text{CH}_2)_{2n+1}-\text{X}-\text{R}_6$.~~

12. Composés selon l'une quelconque des revendications précédentes,
 5 caractérisés en ce que R1, R2 et R3, identiques ou différents, de préférence
 identiques, représentent un groupe $\text{CO}-(\text{CH}_2)_{2n+1}-\text{X}-\text{R}_6$, dans lesquels X
 représente un atome de soufre ou de sélénium et de préférence un atome de
 soufre et/ou R6 est un groupe alkyle saturé et linéaire comprenant de 13 à 17
 10 atomes de carbone, de préférence de 14 à 17, encore plus préférentiellement 14
 atomes de carbone, dans lesquels n est de préférence compris entre 0 et 3, et
 en particulier égal à 0. De manière plus spécifique, d'autres composés préférés
 sont les composés de formule générale (I) dans laquelle R1, R2 et R3
 représentent des groupes $\text{CO}-\text{CH}_2-\text{S}-\text{C}_{14}\text{H}_{29}$.

13. Composés de formule (I) telle que définie à la revendication 1, choisis
 15 parmi :

- 1-tétradécylthioacétylamino-2,3-(dipalmitoyloxy)propane ;
- 3-tétradécylthioacétylamino-1,2-(ditétradécylthioacétyloxy)propane ;
- 3-palmitoylamino-1,2-(ditétradécylthioacétyloxy)propane ;
- 20 - 1,3-di(tétradécylthioacétylamino)propan-2-ol ;
- 1,3-diamino-2-(tétradécylthioacétyloxy)propane ;
- 1,3-ditétradécylthioacétylamino-2-(tétradécylthioacétyloxy)propane ;
- 1,3-dioléoylamino-2-(tétradécylthioacétyloxy)propane ;
- 1,3-ditétradécylthioacétylamino-2-(tétradécylthioacétylthio)propane ; et
- 25 - 1-tétradécylthioacétylamino-2,3-di(tétradécylthioacétylthio)propane.

14. Composition pharmaceutique comprenant dans un support
 pharmaceutiquement acceptable au moins un composé de formule (I) tel que
 défini dans l'une des revendications précédentes, y compris un composé de
 30 formule (I) dans laquelle les groupes G2R2 et G3R3 représentent simultanément
 des groupements hydroxyle.

15. Composition pharmaceutique selon la revendication précédente destinée au traitement ou à la prophylaxie des pathologies vasculaires cérébrales et plus particulièrement de l'ischémie cérébrale ou des accidents vasculaires cérébraux.

5 16. Utilisation d'un composé défini selon l'une des revendications 1 à 13, y compris un composé de formule (I) dans laquelle les groupes G2R2 et G3R3 représentent simultanément des groupements hydroxyle, pour la préparation d'une composition pharmaceutique destinée à un traitement préventif ou curatif chez l'Homme ou chez l'animal.

10

17. Utilisation selon la revendication précédente, caractérisée en ce que la composition pharmaceutique est destinée au traitement ou à la prophylaxie de pathologies vasculaires cérébrales et plus particulièrement de l'ischémie cérébrale ou des accidents vasculaires cérébraux.

15

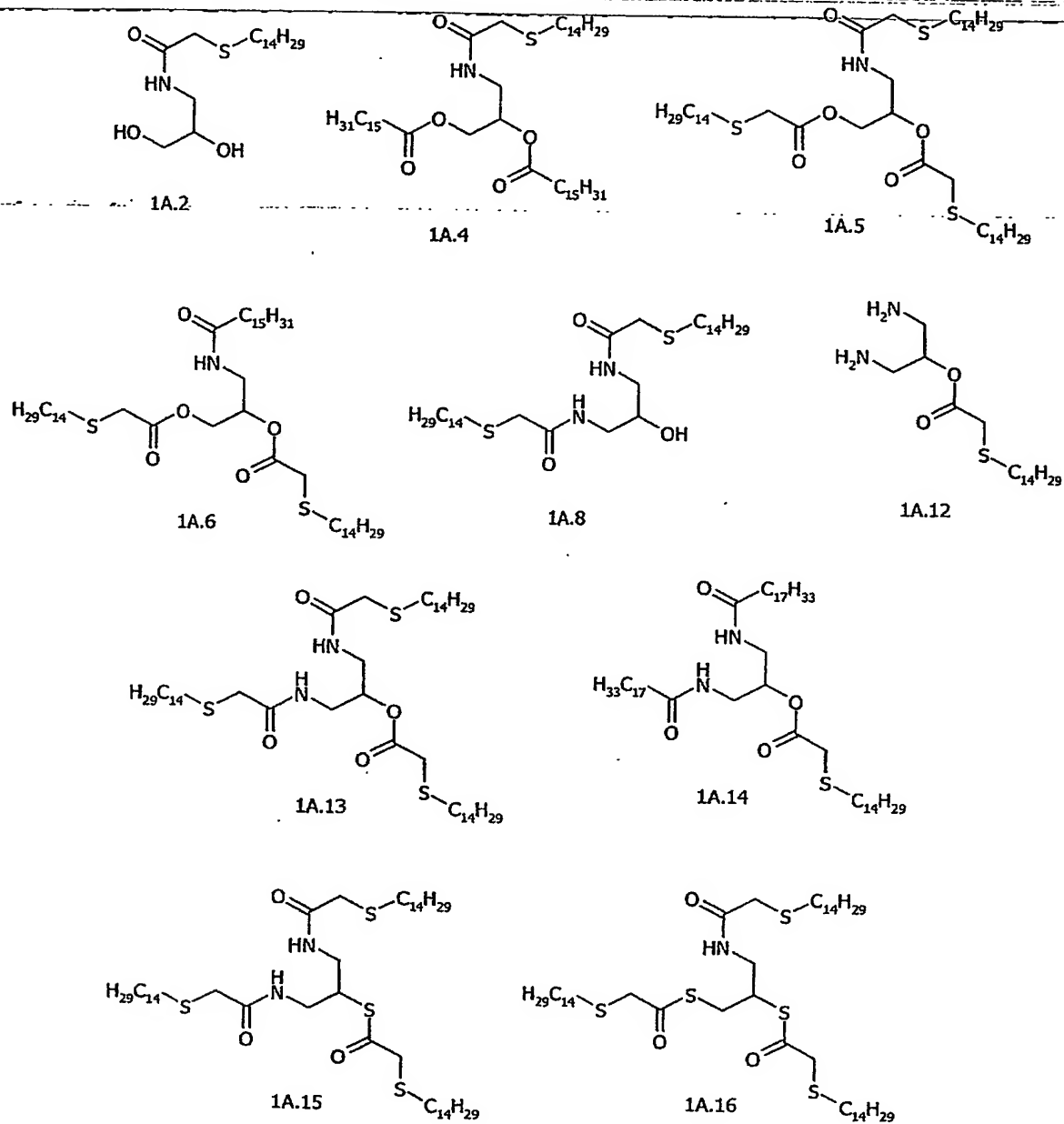
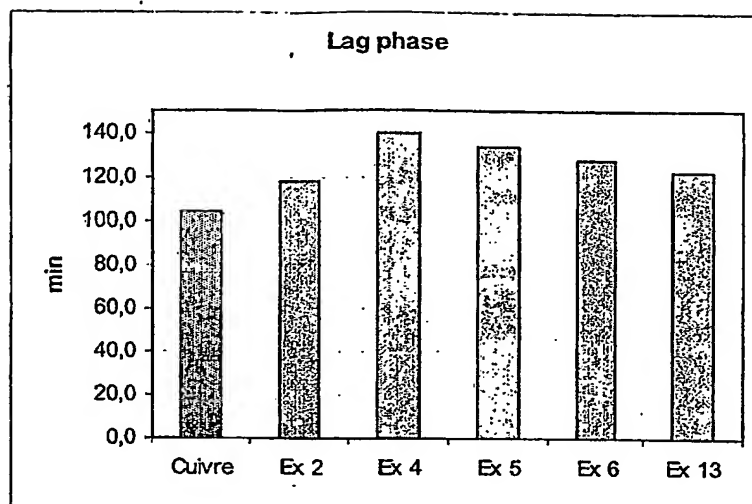
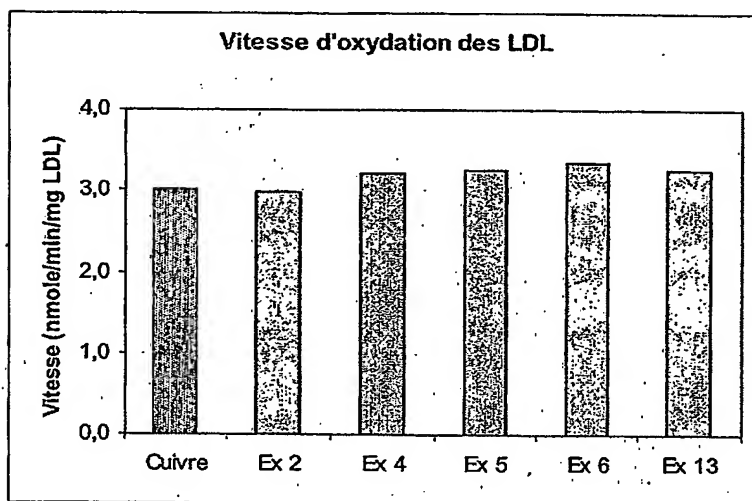


Figure 1

2a



2b



2c

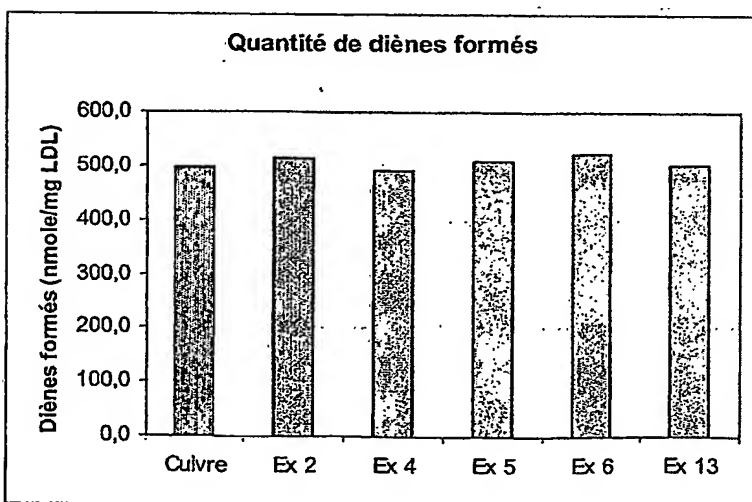


Figure 2

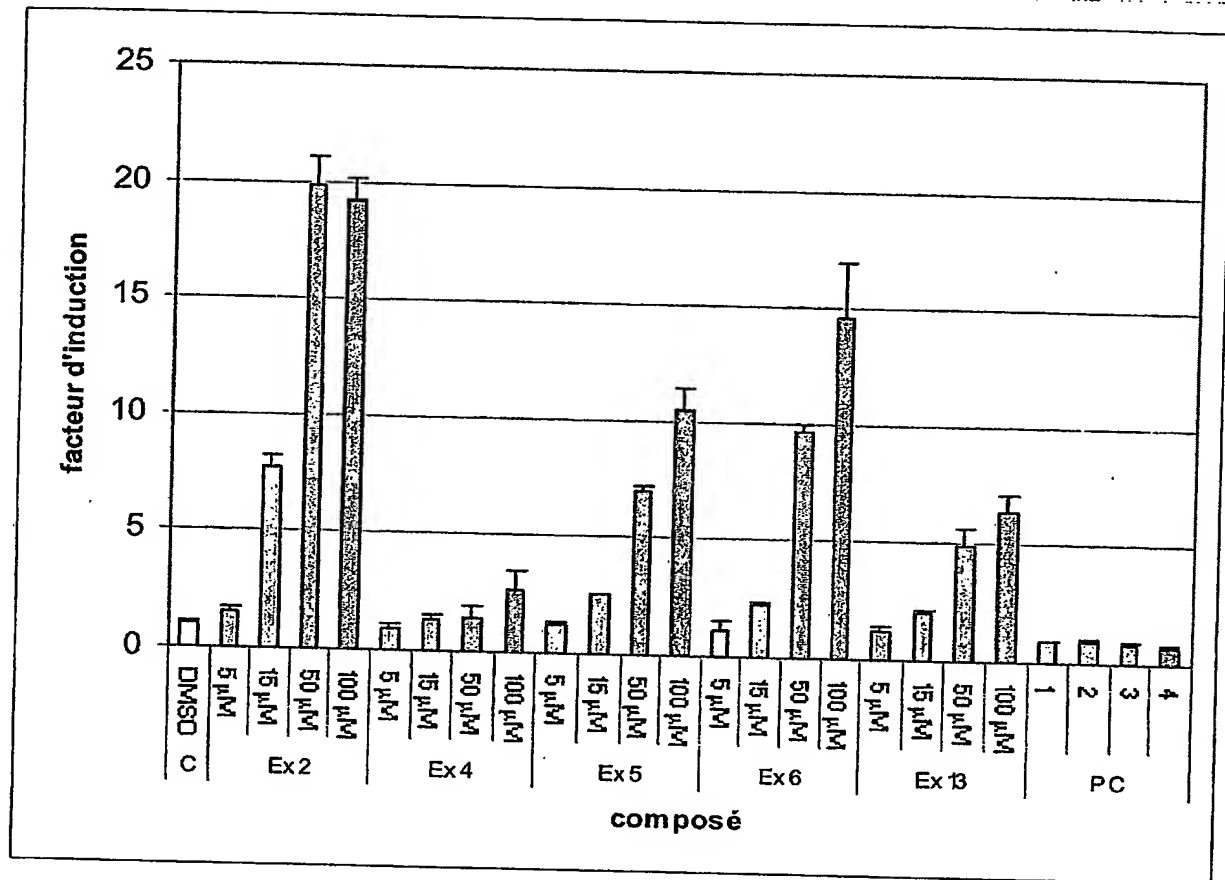


Figure 3



BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UTILITÉ

Code de la propriété intellectuelle - Livre VI

N° 11235*03

DÉPARTEMENT DES BREVETS

26 bis, rue de Saint Pétersbourg
75800 Paris Cedex 08

Téléphone : 33 (1) 53 04 53 04 Télécopie : 33 (1) 42 94 86 54

DÉSIGNATION D'INVENTEUR(S) Page N° 1.../1...

(À fournir dans le cas où les demandeurs et les inventeurs ne sont pas les mêmes personnes)



Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 113 @ W / 270601

Vos références pour ce dossier (facultatif)		B0186FR
N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL		03 01688
TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum) Aminopropanediols acylés et analogues et leurs utilisations thérapeutiques		
LE(S) DEMANDEUR(S) : GENFIT		
DESIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) :		
<input checked="" type="checkbox"/>	Nom	DARTEIL
	Prénoms	Raphaël
Adresse	Rue	17 rue Saint François
	Code postal et ville	59000 Lille
Société d'appartenance (facultatif)		
<input checked="" type="checkbox"/>	Nom	CAUMONT BERTRAND
	Prénoms	Karine
Adresse	Rue	39 rue du Pont Rouge
	Code postal et ville	59236 Frelinghien
Société d'appartenance (facultatif)		
<input checked="" type="checkbox"/>	Nom	NAJIB
	Prénoms	Jamila
Adresse	Rue	185 rue Clémenceau
	Code postal et ville	59211 Santes
Société d'appartenance (facultatif)		
S'il y a plus de trois inventeurs, utilisez plusieurs formulaires. Indiquez en haut à droite le N° de la page suivi du nombre de pages.		
DATE ET SIGNATURE(S) DU (DES) DEMANDEUR(S) OU DU MANDATAIRE (Nom et qualité du signataire) Paris, le 12 novembre 2003 Béatrice TEZIER HERMAN CPI 00-10000		

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

☐ **BLACK BORDERS**

☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**

☒ **FADED TEXT OR DRAWING**

☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**

☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**

☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**

☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**

☒ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**

☒ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**

☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.